

U6 →

CGGACGAAAGCGTACACCGCCCGTCCGATGGCGCCCGCTGCGCGTGTGACCGGATGTGGGTGTGTTCCGGG
90
GTGCGCA'TGTAGCGGTCGTCGGGACGACGCGTCCGCGGTGGTCCGGGTGCGCGGCCCTCCGCTTGATCGGGAATGCGTGTGTTCGGC 90

ACGTAAACGTCGAAACCCGTGGCTTTCAGCAAGTCTGGCGGCCCGCGGCGGATGCGCGGTCGTGTGTAACAGACAAAGTCCG
180
ACGTAAACGTCGAAACCCGTGGCTTTCAGCAAGTCTGGCGGCCCGCGGCGGATGCGCGGTCGTGTGTAACAGACAAAGTCCG 180
ACGTAGAAGTTCGCAAAACCCGTGGTCTGGCAAGCTTCGCGGCCCGAGAGATGCCACGGTCCGTCGGTGAAGACAAAGCCCG 180

U4 →

TAGTCATGTCACCAATAGAACGTTTCACCTGCGCCCGGGCAAGC.....GGCCGTCACAGTCGT....TAATG
TAGTCATGTCACCAATAGAACGTTTCACCTGCGCCCGGGCAAGC.....GGCCGTCACAGTCGT....TAATG 246
TAAATCCATGTCAGTGAATTAGAACGTTCTACCTCTGCGGGTAAAGCTGTGATACGGAACCGTCTGCGCGGTCGTGTGCGAAGC 270
GTCTTACCTCTGCGGGGCAAGCTGTCTGTGATACGGAACCGTCTGCGCGGTCGTGTGCGAAGC

TCCGAGC...GCCGGTCCGTCGCGCAGCGGACCGAACGTCGCTAGCGTTGATCGAATCGCGTCG.....CCG
TCGCGAGC...GCCGGTCCGTCGCGCAGCGGACCGAACGTCGCTAGCGTTGATCGAATCGCGTCG.....CCG 317
CCGCGGGCAAGCAATGGCGACGCGCACCGGCTGCGACGTCGCTAGCGTTGATCGAATCG.....CCG 359
CCGCGGGCAAGCAATGGCGACGCGCACCGGCTGCGACGTCGCTAGCGTTGATCGAATCG.....CCG 359

GGAGCACAGCTGCGACTGCAACAGT.....
GGAGCACAGCTGCGACTGCAACAGT.....
CAAGCACCGCTGCGACTGCGAACCCTGGCGCCCGCTCGGCTAC'AAAAGGCACTGGAAGCAACAGGAGGAGCCATGACTACTCTCCCG 449
CAAGCACCGCTGCGACTGCGAACCCTGGCGCCCGCTCGGCTAC'AAAAGGCACTGGAAGCAACA p34 ORF

Figure 2. Amplifications of us-p34 regions with primers U1, U2, U3, U4, U6 and U9.

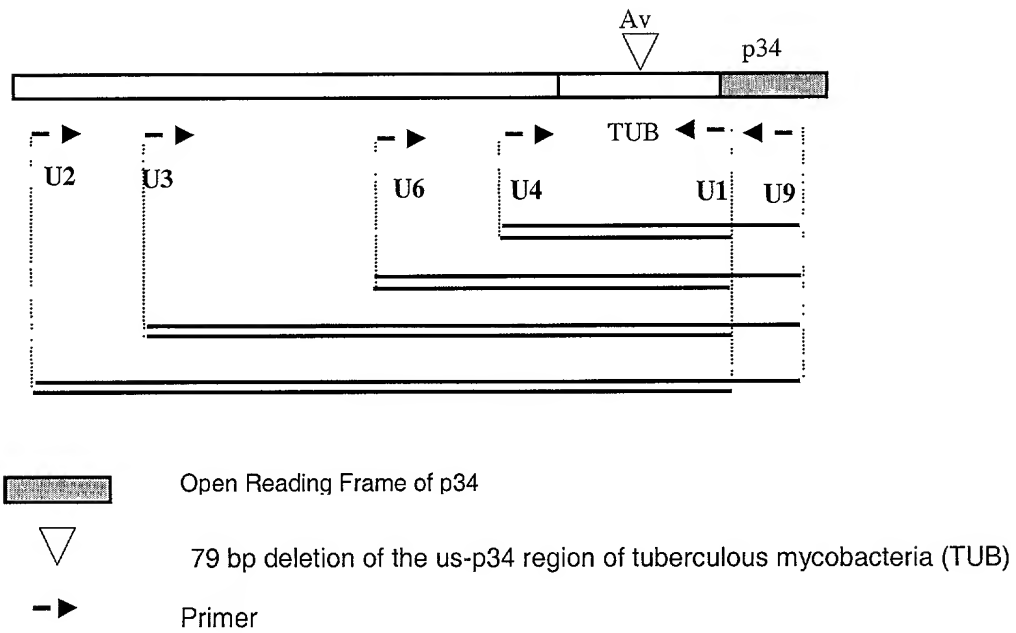


Figure 3. New us-p34 sequences (5' to 3')

Primers used to obtain the sequence (either U2-U1 ; U3-U1 ; U4-U1 ; U2-U9 ; U3-U9 or U4-U9) and the amplicon size are as indicated. Sequence variations (point mutations) found in the same species (for instances *M. ulcerans*) are also indicated when known.

M. intracellulare U4-U1 Length: 216 (SEQ ID NO 57)

```

1   GTTCTACCTG TGCTGAGCAA GCTCCGGTGA TACCGACCGT CTCGCCGAG
51  GGCCGCCGGG GGCCTCGCCG CCCAAGACAG TGGCGGCGCC ACCGGTTCCC
101 GCACGTGCGC TAGCGTGGGT GATCGACCGC GTCGCAATGC GGTGACGCGC
151 CTGCAAGCAC AGCGTCGCAT CGCCACCGCG GCGCCCGCTC GGCACCTAAA
201 GGCAC TGGTA GCAACA

```

M. avium U2-U9 Length: 881 (SEQ ID NO 58)

Underlined, the mutated nucleotide which allows to differentiate *M. avium* from *M. paratuberculosis*.

```

1   TCGTAGCTGG CTTCTCGTC GGTCCACAGC GCCCGCATCG CTTCCAGGTA
51  TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GCCGGCCCGC CGGCACGCCG TGGTCGGCGA
101 GTTCGTGCGT GTTCCAGCCG AACCCGACGC CGAGGCTGAC CCGGCCGCCG
151 GACAGATGGT CAAGGGTGGC AATACTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
201 TTCGACCGGC AGGGCCACCG CGGTGGACAG CCGCACCCGC GAGGTGACGG
251 CACAGGCCGC GCCCAGACTG ACCCACGGGT CCAGGGTGCG CATGTAGCGG
301 TCGTCGGGCA GCGACGCGTC GCCGGTGGTC GGGTGCGCGG CCTCCCGCTT
351 GATCGGGATA TGCGTGTGTT CCGGCACGTA GAAGGTCGCA AACCCGTGGT
401 CGTCGGCAAG CTTCGCGGCC GCAGCCGGAG AGATGCCACG GTCGCTGGTG
451 AAAAGCACAA GCCCGTAATC CATGCAGTGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
501 TGCGGGGCAA GCTGTCGTGA TACGGACCGT CTCGCCCGCG GGTGCTCTCC
551 GAAGCCCGCG GGCAAGCCAA TGGCGACGGC ACCGGCCGTC GCACGTGCGC
601 TAGCGTGGGT GATCGACCGT GTCGCTCGCG CAGTGACCGC CCTGCAAGCA
651 CCGCGTCGCA TCGAACCGT GCGCGCCGCT CGGCACTAAA AGGCAGTGGA
701 AGCAACAGGA GGAGCCATGA CCTACTCTCC CGGCAGCCCC GGATATCCAC
751 CGGCGCAGTC TGGCGGCACC TATGCAGGCG CCACACCATC TTTCGCCAAA
801 GACGACGACG GCAAGAGCAA ACTCCCCTC TACCTCAACA TCGCCGTGGT
851 CGCCCTGGGT TTCGCGGCCT ACCTGCTGAA T

```

M. gastri U3-U1 Length: 642 (SEQ ID NO 59)

1 GTGCGCCGGC GCGCCGGCGG CACGCCATGG TCGGCGAGTT CGTGC GCCCG
51 GCGGCACGCC ATGGTCGGCG AGTTCGTCGG TGTTCAGCC GAATCCGACG

Figure 3-continued

101 CCGACGCTGA CCCGGCCCCC GGATAGTGGT CCAGCGTGGC AATGCTTTTG
151 GCCAGCGTGA TCGGGTCATG CTCCACCGCA GCGCAACCGC GGTGACAGC
201 CTGACTCGGG AGGTGACCGC TGAAGCCGCA CCCAAGCTCA CCCACGGGTC
251 CAGGGTGCGC ATATAGCGGT CGTCCGGCAG CGACGCGTCA CCCGTCGTGG
301 GATGGGCGGC TTCCCGTTTG ACCGGGATAT GCGTGTGTTC GGGCACGTAG
351 AGAGTGCGAA AGCCATGGTC GTCGGCCAGT TTCGCGGCTG CCGCCGGGGA
401 GATCCACCGG TCGCTGGTGA AAAGGACAAG CCCGTAATCC ATGAACAGAA
451 TTAGAACGTG TTCTACCTCC GCCGGGCAAG CGGCTCATCT GCCGATCGGC
501 AGCGGTGCCG GGGCCGGTAT CGCGGGCGGC AAGGTCGCCA CGGCGTGAGT
551 ACCCGGCCGT GCGCTAGCGT GGGTCATCGA ATTGTGTGCG AGGGAGCAAT
601 CGTCGCATTG CAGCAGGCGT AGCGACGGCA CCGGAGGTAA CA

M. gordonae U3-U9 Length: 745 (SEQ ID NO 60)

1 GTGCGACGAC GGCCGGCCAG CACGTTATGG TCGGCGAGCT CGTCGGTGT
51 CCAGCCGAAC CCGACGCCGA GGCTAACTCG CCCGCCGGAC AGGTGATCCA
101 GCGTGGCGAT GCTTTTCGCC AAGGTGATCG GGTGATGCTC GACCGGCAAC
151 GCGACTGCCG TCGACAGCCG CACCCGCGAC GTCACAGCAC ACGCCGCGCC
201 CAGGCTCACC CAGGGATCCA GGGTGCGCAT ATAACGGTCG TCGGGCAGCG
251 TCTCGTCTCC GGTGGTGGGA TGAGCCGCTT CGCGTTTGAT CGGGATATGC
301 GTGTGTTTCG GTACGTAGAA GGTGTGAAAA CCATGTGTGT CGGCAAGTTT
351 CGCTGCTGCC GCAGGGGAAA TACCGCGATC GCTGGTGAAC AGAACGAGGC
401 TGTAAGTCCAT GCCCAATTT AGAACGTGTT CTACTTTTGG CCGCAGCCGA
451 CCCCCTGCGG CGACGGGCAC TAGTTGTCAG AGGTGCGCTA GCGTGGTTGA
501 TCGAATGCGT CGCAGGCCGT ACCGCGTCGT GCCGAAGCAG AGGGGCCGTG
551 ACGGCACCGG AAGCAACAGG AGGACTTATG ACCTACCCGC CCGGTAGTCC
601 CGGATATCCA TCCGCCCAGC AGTCGGCCGG CAACTACGGC AGCTCCGCTC
651 CCGCCGCCGG CCAGTCCGAG CCGGGTGAAA GCAAGCTGGG ACTGTACCTG
701 GCCATCGCGG TGGCGGCCCT GGGCCTACTG GCGTACCTCT TCAGC

M. kansasii U3-U9 Length: 785 (SEQ ID NO 61)

1 GTGCGCCGGC GCGCCGGCGG CACGCCATGG TCAGCGAGTT CGTCGGTGT
51 CCAGCCGAAT CCGACGCCGA CGCTGACCCG CCCCCGGAT AGGTGGTCCA

101 GCGTGGCAAT GCTTTTGGCC AGCGTGATCG GGTTCATGCTC GACCGGCAAC
 151 GCAACCGCTG TTGACAGTCG GACCCGGAAG GTGACCGCTG AAGCCGCGCC
 201 CAAACTCACC CACGGGTCCA GCGTGCGCAT ATAGCGGTCG TCCGGCAGCG
 251 ACGCGTCACC CGTCGTGGGA TGGCGGCCTC CCGTTTGACC GGGATGTGCG
 301 TGTGTTGCGG CACGTAGAAA GTGCGAAAGC CATGGTCGTC GGCCAGTTTC
 351 GCGGCTGCCG CGGGAGAAAT GCCACGGTCG CTGGTGAAAA GGACAAGCCC

Figure 3-continued

401 GTAATCCATG AACAGAATTA GAACGTGTTC TACCTCAGCC GGGCAAGCGG
 451 CTCATCCGCC GATCGTCGGC AGTGGTGACG GGGCCGGTAT CACGGGGGCA
 501 AGGTCGCCAC GGC CGAGTA CCAGGCCGTG CGCTAGCGTG GGTTCATCGAA
 551 TCGTGTGCA GGGAGCAATC GTCGCATTGC AGCAGGCGTA GCGACGGCAC
 601 TGGAGGTAAC AGGAGGAGCC ATGACCTACT CACCAGGTAG TCCCGGATAT
 651 CCGCCCGCGC AATCGGCCGG CTCCTACGGA GCCGCCACAC CGTCTTTCCG
 701 CAAGGCCGAC GACGGTGTCA GCAAGCTTCC GATGTACCTG AGCATGGCGG
 751 TTGCCGCGCT CGGGCTGCTG GCGTATCTGG CCAGC

M. malmoense U2-U1 Length: 741 (SEQ ID NO 62)

1 TCGTAGGCCG CTTCTCCTG GGTCCACAGC GCCCGCATTG CCTCGATGTA
 51 TTCACGCAGC ATGGTGCGAC GGC GCCCGG CGGCACGCCG TGGTCGGCGA
 101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCA AACCCAACGC CGAGGCTGAC CCGGCCGCCG
 151 GACAGGTGGT CCAAGGTGGC AATACTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
 201 CTCGACGGGC AGCGCCACCG CGGTAGACAG CCGCACCCGC GACGTCACGG
 251 CGCACGCCGC GCCCAGGCTC ACCCACGGGT CTAGCGTGCG CATATAGCGG
 301 TCGTCCGGCA AGCGACGCGC CACCCGTCGT CGGATGGGCC GCCTCGCGCT
 351 TGACCGGGAT ATGGGTGTGT TCCGGCACGT AGAACGTCTG GAAGCCGTGG
 401 TCGTCGGCAA GTTTGGCGGC TGCCGCCGGG GAGATGCCGC GGTGCTGGT
 451 GAAAAGTACA AGCCCGTAAT CCATGGACAG AATTAGAACG TGTTCTACCG
 501 GCGGTGGGCA AGCCGCTGCG CCGCCGAGGA TCTCGACTCG GACCCACAAC
 551 ACTGGTCGGC GCCGGGCGCG CCGACAGGTC GGTGCGCCCG GCACGGGCGG
 601 CCGAACGTGC GCTAGCGTGG GTGATCGATC GCGTCGCAAC GCAAGATCTC
 701 ATGCGGCGTC GCTGAGGGTC TTGAAGGCAC TGAAGCAAT A

M. simiae U2-U1 Length: 748 (SEQ ID NO 63)

1 TCGTATTGGG CTTCTTCCTG CGTCCACAGC GCCCGCATGG CTTCCAGGTA
 51 CTCGCGCAGC ATGGTCCGCC GGC GCCCGG CGGCACGTTG TGGTCGGCCA

101 GTTCGTCGGT GTTCCAACCG AACCCGACGC CCACACTGAC CCGTCCGCCG
 151 GACAGATGGT CCAGGGTGGC GATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
 201 CTCGACGGGC AGCGCGACCG CGGTGGACAG TCGCACCCGC GAGGTGACCG
 251 CGCACGCCGC GCCCAGACTG ACCCACGGGT CCAGCGTGCG CATGTAGCGG
 301 TCGTCGGGCA GCGATTCTGC GCCCGTCGTG GGATGGGCCG CCTCGCGCTT
 351 GATCGGGATG TGAGTGTGTT CTGGCACGTA GAACGTTGTG AAGCCATGGT
 401 CGTCGGCGAG TTTGGCCGCG GCCGCCGGG CGATGCCCCG ATCACTGGTG
 451 AAAAGCACGA GCCCGTAATC CATGCACAGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
 501 TGTGGAGCAA GCGGCCCCCG CTACGTCGAC CCGCAGACGG GCCGCTGAGA

Figure 3-continued

551 CGATCGCTCC TGGTCGCGCC TAGGGGCCGG TCGCTCCCGC GCACCCGCTC
 601 GAACGTGCGC TAGCGTGGTT GATCGGTCGC GCGTAACGCA AACGCGGGCA
 701 AGCAGTGACG TCGCGCCCGA CGAGGTCTTG AAGGCACTGG AAGCAACA

M. szulgai U3-U9 Length: 712 (SEQ ID NO 64)

1 GTGCGGCGGC GCCCGGCCGG GACGCCGTGA TCAGCGAGCT CGTCGGTATT
 51 CCAGCCGAAG CCGACGCCGA GGCTGACCCG GCTGCCGGAC AGATGATCCA
 101 GCGTGGAAT GCTTTTGGCC AGCGTGATCG GATCATGCTC GACCGGCAGC
 151 GCCACGCGG TGGACAACCG GACCCGAGAC GTCACCGCGG CCGCAGCACC
 201 CAAACTCACC CACGGGTCCA GCGTGCGCAT GTAGCGGTCA TCGGGCAGCG
 251 ACGCGTCACT CGTAGTGGGA TGGGCAGCCT CCCGCTTGAT CGGGATGTGG
 301 GTGTGTTTCA GCACGTAGAA CGTCTGAAAA CCGTGGTCGT CGGCCAGCTT
 351 TGCGGCCGCC GCCGGGGCAA TGCCGCGATC GCTGGTGAAA AGTACAAGCC
 401 CGTAATCCAT GCACCGAATT AGAACGTGTT CTACCTGCGA TGAGCAAGCG
 451 GCCCGGTCGG CCGACGAGCA GGTGCGCCCG GCGCGACCAG CAGAACGTGC
 501 GCTAGCGTGG TTGATCGAGT CGCGCACCGG AAAGCAACCG GAAGTAATCA
 551 GGAGGAGCCA TGACCTACTC GACCGGCAGC CCCGGATATC CGCCTGCGCA
 601 GCAGCCCGGG GGGTCGTACG GCGGCGCCAC TCCTGGTGAC GCTCAGAGCA
 651 AGCTTCCGCT GTACCTCAGC ATGGCGGTGG CCGCCCTCGG CCTGGCCGCG
 701 TATCTCGCCA GC

M. tuberculosis U2-U9 Length: 802 (SEQ ID NO 65)

1 TCATAGCAGG CCTCCTCTTG GGTCCACAAC GCCCGCATCG CCTCGAGGTA
 51 TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GCGTCCGGG TGGCACACCA TGATCGACGA
 101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCG AACCCGACCC CGACGCTGAC CCGGCCGTGC
 151 GACAAATGAT CCAGCGTCGC AATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGATCATG
 201 CTCGACCGGC AGCGCCACCG CGGTGGCAAG CCGGATCCGC GACGTCACCG

```

251  CCGATGCTGC TCCCAGGCTC ACCCACGGGT CCAACGTGCG CATATAGCGG
301  TCGTCCGGCA GCGAAGCGTC ACCCGTCGTC GGATGGGCCG CCTGGCGCTT
351  GACCGGGATG TGGGTGTGTT CGGGCACGTA AAACGTGCGA AACCCGTGGC
401  TTTCAGCAAG TCTGGCGGCC GCGGCCGGGG TGATGCCCGG GTCGCTGGTG
451  AACAGCACAA GTCCGTAGTG CATGCACCGA ATTAGAACGT GTTCCACCTG
501  CGCCGGGCAA GCGGCCGTCC AGTCGTTAAT GTCGCGAGCG CCGGTCGCTC
551  CGGCAGCGGC ACCCGAACGT GCGCTAGCGT GGTGATCGA ATCGCGTCGC
601  CGGGAGCACA GCGTCGCACT GCACCACTGG AGGAGCCATG ACCTACTCGC
651  CGGGTAACCC CGGATACCCG CAAGCGCAGC CCGCAGGCTC CTACGGAGGC
701  GTCACACCCT CGTTCGCCCC CGCCGATGAG GGTGCGAGCA AGCTACCGAT
751  GTACCTGAAC ATCGCGGTGG CAGTGCTCGG CCTGGCTGCG TACTTCGCCA
801  GC

```

Figure 3-continued

M. bovis U2-U1 Length: 628 (SEQ ID NO 66)

In this sequence, there is a mutation (as underlined) compared with the sequence of *M. tuberculosis*.

```

1   TCATAGCAGG CCTCCTCTTG GGTCCACAAC GCCCGCATCG CCTCGAGGTA
51  TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GCGGTCCGGG TGGCACACCA TGATCGACGA
101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCG AACCCGACCC CGACGCTGAC CCGGCCGTGC
151 GACAAATGAT CCAGCGTCGC AATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGATCATG
201 CTCGACCGGC AGCGCCACCG CCGTGGAAG CCGGATCCGC GACGTCACCG
251 CCGATGCTGC TCCCAGGCTC ACCCACGGGT CCAACGTGCG CATATAGCGG
301 TCGTCCGGCA GCGAAGCGTC ACCCGCGTC GGATGGGCCG CCTGGCGCTT
351 GACCGGGATG TGGGTGTGTT CGGGCACGTA AAACGTGCGA AACCCGTGGC
401 TTTCAGCAAG TCTGGCGGCC GCGGCCGGGG TGATGCCCGG GTCGCTGGTG
451 AACAGCACAA GTCCGTAGTG CATGCACCGA ATTAGAACGT GTTCCACCTG
501 CGCCGGGCAA GCGGCCGTCC AGTCGTTAAT GTCGCGAGCG CCGGTCGCTC
551 CGGCAGCGGC ACCCGAACGT GCGCTAGCGT GGTGATCGA ATCGCGTCGC
601 CGGGAGCACA GCGTCGCACT GCACCACT

```

M. xenopi U4-U9 Length: 400 (SEQ ID NO 67)

```

1   GTTACCCAC CGCGAGCAAG CGGCGCCGGT AGAAGCTGCG ATGACACGCC
51  AGTCGCCCGC AGACCCCCGC CGCCAGGTGC GCTAGCGTGG ATGGTCAAT
101 CGCGTCGCAA CGCCTGCCCT GACAAGTCAC GGCGTTAATG GAGCGGTCCA
151 CGCAGCGTCG CGCGGAAGCG GCGCCCTGGG GATACAGCGT CGCAACACAG

```

201 TGGCGCCCCA ACGGCACTGA TGCACAGGAG AAGCCATGAC GTACTCGCCC
 251 GGTAGCCCCG GATATCCACC CGCGCAGTCC CCCGGTTCCT ACGGCGGCTC
 301 CCCACAGTCG TTCGCCAAAT CCGATGACGG CGCCAGCAAG CTGCAGCTGT
 351 ATCTGACCGT CGCGGTGGTG GCGCTCGGCC TGGCGGCCTA CCTGGCGAGT

M. paratuberculosis U2-U1 Length: 707 (SEQ ID NO 68)

Underlined, the mutated nucleotidic base which allows to differentiate *M. Avium* from *M. Paratuberculosis*.

1 TCGTAGCTGG CTTCTCGTC GGTCCACAGC GCCCGCATCG CTTCCAGGTA
 51 TTCGCGCAGC ATGGTGC GGC GCCGGCCCGC CGGCACGCCG TGGTCGGCGA
 101 GTTCGTGCGT GTTCCAGCCG AACCCGACGC CGAGGCTGAC CCGGCCGCCG
 151 GACAGATGGT CAAGGGTGGC AATACTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG

Figure 3-continued

201 TTCGACCGGC AGGGCCACCG CGGTGGACAG CCGCACCCGC GAGGTGACGG
 251 CACAGGCCGC GCCCAGACTG ACCCAGGGT CCAGGGTGCG CATGTAGCGG
 301 TCGTCGGGCA GCGACGCGTC GCCGGTGGTC GGGTGCGCGG CCTCCCGCTT
 351 GATCGGGATA TGCGTGTGTT CCGGCACGTA GAAGGTCGCA AACCCGTGGT
 401 CGTCGGCAAG CTTGCGGGC GCAGCCGAG AGATGCCACG GTCGCTGGTG
 451 AAAAGCACAA GCCCGTAATC CATGCAGTGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
 501 TGCGGGGCAA GCTGTGCTGA TACGGACCGT CTCGCCGCGC GGTGCTCTGC
 551 GAAGCCCGCG GGCAAGCCAA TGGCGACGGC ACCGGCCGTC GCACGTGCGC
 601 TAGCGTGGT GATCGACCGT GTCGCTCGCG CAGTGACGCG CCTGCAAGCA
 651 CCGCGTCGCA TCGCAACCGT GGCGCCCGCT CGGCACTAAA AGGCAGTGGA
 701 AGCAACA

M. marinum U2-U1 Length: 686 (SEQ ID NO 69)

This sequence is based on the sequence analysis of 6 different strains

1 TCGTAGGCGG CTTCTCCTG CGTCCACAGT CGCCCGCATC GCCTCGAGGT
 51 ATTCACGCAA CATCGTGCGG CGCCGTCCGG GTGGAACGCC ATGGTCGGCG
 101 AGTTGCTCGG TGTTCCAACC GAACCCACG CCGAGGCTGA CCCGTCCGCC
 151 GGACAGATGA TCCAGCGTGG CAATGCTCTT GGCCAGGGTG ATCGGGTCAT
 201 GCTCGACGGG CAGCGCCACC GCAGTCGACA GCCGTACCCG CGAGGTCACC
 251 GCCGATGCCG CGCCCAAACCT CACCCAGGGG TCCAGCGTGC GCATATAACG


```

301 ATCGTCGGGA AGCGAGGAAT CGCCCGTCGT TGGATGAGCG GCTTCTCGCT
351 TGATTGGGAT ATGGGTGTGC TCAGGCACGT AGAAGGTGTG AAAGCCGTGG
401 TCGTCAGCGA GTCTCGCCGC CGCCGCCGGA GCGATGCCGC GGTGCTGGT
451 GAAAAGCACA AGCCCATAGT CCATAACAGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
501 GGCCGGGCAA GCGCCCCCG CGCCAATCGG CTCGGCGGGA TCGACGGAGG
551 TGATGGCGCT GGTGAGCGG GGGCAGGTCG CCGCGGCGCG AGCACC GGAA
601 CGTGCCTAG CGTGTTGTT CGAATCGCGT CGCAGGGACC AAGCGTCGCA
651 ATGCAGCAGC GCGCCGCGA CGGCGCGCAA GTAACA

```

M. ulcerans U2-U1 Length: 685 (SEQ ID NO 70)

13 different strains have been sequenced.

These strains from Zaïre, Mexico, Surinam, Japan, Benin, Australia, Togo show a strong identity but disclose point mutations. There is therefore a certain degree of variations within an otherwise conserved sequence.

Primers are identical to those of *M. marinum* (both strains are indeed highly similar). The bases which are underlined are mutated nucleotidic bases but the base shown here is the most frequent among the sequenced species

```

1 TCGTAGGCGG CTTCTCCTG CGTCCACAGC GCCCGCATCG CCTCGAGGTA
51 TTCACGCAAC ATCGTGCGGC GCCGTCCGGG TGGAACGCCA TGGTCGGCGA

```

Figure 3-continued

```

101 GTTCGTCGGT GTTCCAACCG AACCCACGC CGAGGCTGAC CCGTCCGCCG
151 GACAGATGAT CCAGCGTGGC AATGCTCTTG GCCAGGGTGA TCGGGTCATG
201 CTCGACGGGC AGCGCCACCG CAGTCGACAG CCGTACCCGC GAGGTCACCG
251 CCGATGCCGC GCCCAAATC ACCCAGGGGT CCAGCGTGCG CATATAACGA
301 TCGTCGGGAA GCGAGGAATC GCCCGTCGTT GGATGAGCGG CTTCTCGCTT
351 GATTGGGATA TGGGTGTGCT CAGGCACATA GAAGGTGTGA AAGCCGTGGT
401 CGTCAGCGAG TCTCGCCGCC GCCCGCGGAG CGATGCCGCG GTCGCTGGTG
451 AAAAGCACAA GCCCATAGTC CATAACAGAA TTAGAACGTG TTCTACCTCG
501 GCCGGGCAAG CGCCCCCGC GCCAATCGGC TTGGCGGGAT CGACGGAGGT
551 GATGGCGCTG GTCGAGCGGG GGCAGGTCGC CGCGGCGCGA GCACCGGAAC
601 GTGCGCTAGC GTGTTGTTT GAATCGCGTC GCAGGGACCA AGCGTCGCAA
651 TGCAGCAGCG GCGCCGCGAC GGCGCGCAAG TAACA

```

M. leprae U2-U1 Length: 729 (SEQ ID NO 71)

```

1 TCATATAACG GCTTCATTCT TGTGTCCATA ATGCCTGCAT TGCTTCGAGG
51 CATTCTGACA CCATGGTGCG GCGCCGCCCC GATGGCACAT CGTGATCGGT
101 GAGCTCGTTG GTCTTCCAAC CGAACCCGAC GCCGAAGTTC ACTCACTCGC
151 CGGACAAATT ATCCAGGTTG ACAATACTTT TCGCAAGTGT GATTGGGTCA

```

201 TGTTAGACGG GCAGCGCCAC CACCATGAAC AGTCGTAGCC TGCCGATATA
 251 ACCCGCATGT CGCGCCCAA CTTACCCATG AGTCATAGGT ACGCATCGCA
 301 TATAGCTGTC GTCAC TGGAC AGTGATACTC ATCCGTAACC AGGTAGTGGG
 351 GTCTGAGTGG CAATGGCATA TGGGTGTGTT CGGGCACATA GAACTTGCGG
 401 AAGCCGTGGC TCTCCGCAAG CTTGACTGCT GCCGCGGGG TGATGCCGCG
 451 GTCGTTGGTT AAAAGCGCAA TCCCGTAGCC CATACCAAGA ATTTAGAGCG
 501 TGTTCACCT GCGACGGCCA AGCGGTCGT CCGACGATT TCGCGTCCAT
 551 CCGTGGTAGG CGAGCTGACA CGCAGGTCGT GCCGGCGCGG TCGCCCTAAC
 601 GTGCGCTAGC GTTGATGATC GAATGCGCCG CAACGTAAGC GCTGCCAATT
 651 TGGGCGTTTA TCCAACGGTG CGCATGGGAG CACAGCGTTG CACTGCAGCA
 701 GTGGCGCCGT GACGGCACTG GAAATAACA

M. nonchromogenicum U4-U1 Length: 129 (SEQ ID NO 72)

1 GTTCCTGTTC GGCGGGCAAC GGGGGGTCC TTGTCGCGCA GTGTTGACCC
 51 ACCGACTCGG CCCGCAAGTG CGCTAGCGTG GATGGTCGAA GCGCGCCGCA
 101 CCGCCCACCA GCGCCCTGCC ACAAGCACA

M. scrofulaceum U4-U1 Length: 219 (SEQ ID NO 73)

1 GTTCTACCTC CCGTGAGCAA GCTGCCGCCG CGGCGGCACG GATCGGCGTC
 51 CAAGCCGGTC GCGACGGCAC GCCCGTCCCG AAGTGCCTA GCGTGTTGA
 101 TCGATCGCGT CGCAACGCAA CCGCCGGGCA CGGCATTCGT GGAACGGCGC

Figure 3-continued

151 GCCCGCACGC ACAGCGCCGC GACGCAACTG TGGCGCCCGC AAAGGCACTT
 201 CACGGCACTG GAAGCAACA

M. triplex U4-U1 Length: 116 (SEQ ID NO 74)

1 GTTCTACCTT GGTCGGCAAG CGGCGCGGGA ACGGCCCCGG CACCGGCTCC
 51 CCGACGTGCG CTAGCGTGGT TGTTTGAATC GCGTCGCAAC GCAAGCGCGG
 101 CGAGCCTGGA AAAACA

M. Paratuberculosis F57 sequence

M. paratuberculosis F57b - MPT1 Length: 618 (SEQ ID NO 75)

1 GATCTCAGAC AGTGGCAGGT GCGGGCTCCG AAGCTGGCGT CAGCTATTGG
 51 TGTACCGAAT GTTGTGTGCA CCGAGCCGGT CCCAGGTGTG TTCGAGTTGC
 101 AGCTGAGAAT TGTCGATCCG CTTAGTTCGC CGCTTGAATG GTCGTCTGTG

151 CCAGCCGCCC ACTCGTGGTC TCTGAGTTTG GGTATCGATG AAATGGGCGT
201 CTACCAGTCG CTCCCGTTGG CGAACGTATC GGGCGTTGTA GTGGGAGGCG
251 TACCAGGGTC GGGGAAAACC GCGTGGCTGA CGAGTGCTCT GGGGTCGTTC
301 GGTGCGTCAG CGGCGGTCCA GTTCGCTGTC ATCGACGGGA AGGGTGGTCA
351 GGACTTGAA TGCCTGCGTG CTCGTAGCTG CCGATTCATG AATGACGATC
401 TGGAGCTGCC TGAGATTGCA GCGATTCTGA ATGACGCGAC CGGTCTAGTC
451 CGTGATCGAA TTAGACAGGG CAACAACATA TTCGGATCGT CCAACTTTTG
501 GGATCGCGGC CCGACGCCGC AGGTTCCGCT GGTGTTCTGT GTGATTGACG
601 GCTATCGGGG CCGAGATC

CCAGCCGCCC

Figure 4. U1-U4 consensus amplification of *us-p34* regions of different mycobacterial species



SZULGAI : 163 pb

FORTUITUM : 177 pb

AFRICANUM : 178 pb

BOVIS / TUB. : 178 pb

FLAVESCENS : 178 pb

GORDONAE : 182 pb

GASTRI : 223 pb

KANSASII : 225 pb

MARINUM : 236 pb

PHLEI : 236 pb

INTRACELLULARE : 255 pb

AVIUM / PARATUB. : 257 pb

CHELONAE : 256 pb

SCROFULACEUM : 259 pb

XENOPI : 265 pb

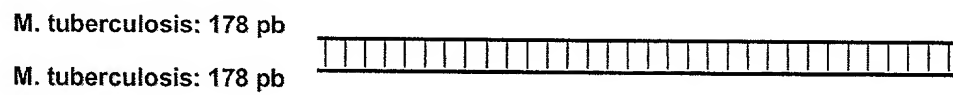
LEPRAE : 269 pb

MALMOENSE : 290 pb

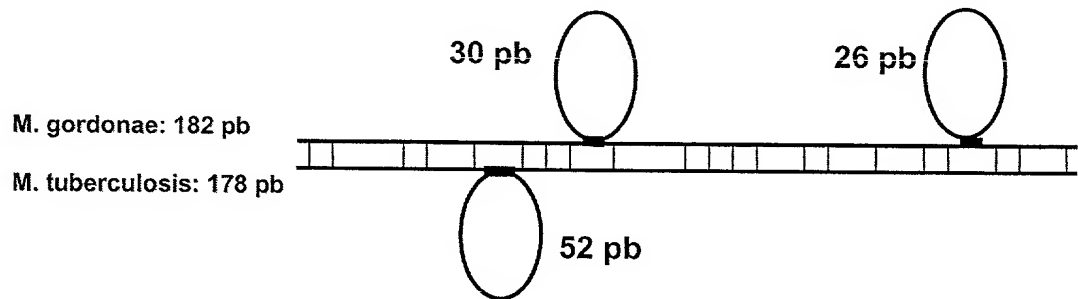
SIMIAE : 298 pb

Figure 5. Specific and non specific hybridization

Homologous hybridization between both 178-bp amplicons from *M. tuberculosis*



Deletion within each of both single strands hampers hybridization between the 182-bp amplicon from *M. gordonae* and the 178-bp amplicon from *M. tuberculosis*



Schematic representation of a deletion

a) Unlabeled amplified DNA segments specific for various mycobacteria species were first transferred on nylon membrane (*M. tuberculosis* (TB), *M. avium* (AV), *M. szulgai* (SZ), *M. kansasii* (KA), *M. xenopi* (XE), *M. simiae* (SI) and *M. malmoense* (ML)).

b) Digoxigenin-labeled amplicons from *M. tuberculosis* (TB*), *M. avium* (AV*), *M. szulgai* (SZ*), *M. kansasii* (KA*), *M. xenopi* (XE*) and *M. simiae* (SI*) were hybridized on the nylon membrane. Specific differential hybridization is obtained.

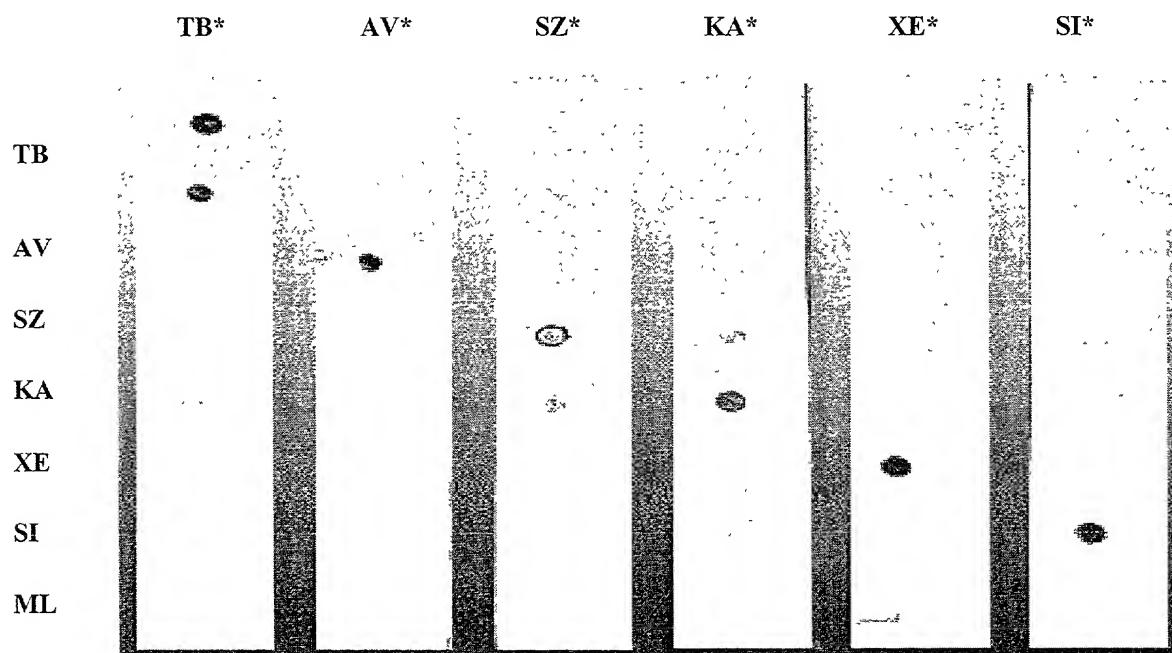
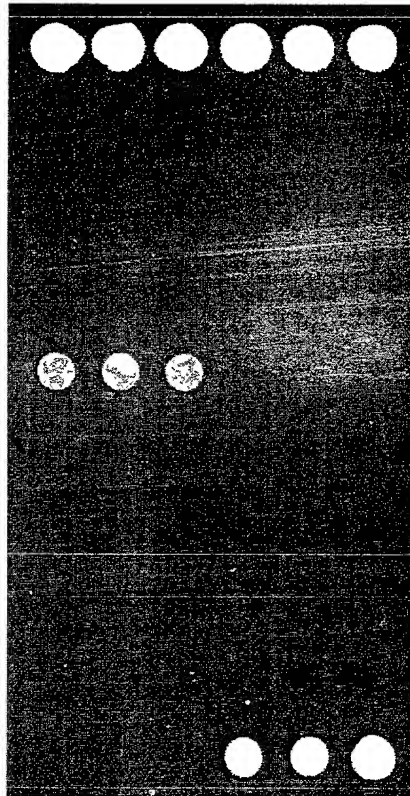


Figure 7. Example of biochips detecting specifically *M. gordonae*.

Control of fixation



Control of hybridization

Figure 8. Alignment of several *Mycobacterial* us-p34 sequences.

Parameters used for sequence alignment:
gap creation penalty = 5; gap extension penalty = 1

	1					50
{mycAV21}	tcgtag.ctg	gcttcctcgt	cggtccacag	.cgc-cg-at	c-cttccagg	
{mycPT2Z}	tcgtag.ctg	gcttcctcgt	cggtccacag	.cgc-cg-at	c-cttccagg	
{mycML2Z}	tcgtag.gcc	gcttcctcct	gggtccacag	.cgc-cg-at	t-cctcgatg	
{mycSI2Z}	tcgtat.tgg	gcttcctcct	gcgtccacag	.cgc-cg-at	g-cttccagg	
{mycTB21}	tcatag.cag	gcctcctcct	gggtccaca.	acgc-cg-at	c-cctcgagg	
{mycBO2Z}	tcatag.cag	gcctcctcct	gggtccaca.	acgc-cg-at	c-cctcgagg	
{mycMA2Z}	tcgtag.gcg	gcttcctcct	gcgtccacag	tcgc-cg-at	c-cctcgagg	
{mycUL2Z}	tcgtag.gcg	gcttcctcct	gcgtccacag	.cgc-cg-at	c-cctcgagg	
{mycGA3Z}	gtg.....-gc-gg	c-ccccggcg	
{mycKA31}	gtg.....-gc-gg	c-c.....	
{mycGO31}	gtg.....-ga-ga	c-g.....	
{mycSZ31}	gtg.....-gg-gg	c-c.....	
{mycLE2Z}	tcatataacg	gcttcattct	tgtgtccata	atgc-tg-at	t-cttcgagg	
Consensus	-----	-----	-----	----C--C--	-G-----	

	51					100
{mycAV21}	tattcgcgca	gcatgggtgcg	gcgccggc-c	-ccg-c--gc	cg--g--ggc	
{mycPT2Z}	tattcgcgca	gcatgggtgcg	gcgccggc-c	-ccg-c--gc	cg--g--ggc	
{mycML2Z}	tattcacgca	gcatgggtgcg	acggcgcc-g	-ccg-c--gc	cg--g--ggc	
{mycSI2Z}	tactcgcgca	gcatgggtccg	ccggcgcg-c	-gcg-c--gt	tg--g--ggc	
{mycTB21}	tattcgcgca	gcatgggtgcg	gcggcgtc-g	-gtg-c--ac	ca--a--gac	
{mycBO2Z}	tattcgcgca	gcatgggtgcg	gcggcgtc-g	-gtg-c--ac	ca--a--gac	
{mycMA2Z}	tattcacgca	acatcggtgcg	gcgccgtc-g	-gtg-a--gc	ca--g--ggc	
{mycUL2Z}	tattcacgca	acatcggtgcg	gcgccgtc-g	-gtg-a--gc	ca--g--ggc	
{mycGA3Z}	gcacgccatg	gtcggcgagt	tcgtgcgc-c	-gcg-c--gc	ca--g--ggc	
{mycKA31}g-c	-gcg-c--gc	ca--g--agc	
{mycGO31}c-g	-cca-c--gt	ta--g--ggc	
{mycSZ31}c-g	-ccg-g--gc	cg--a--agc	
{mycLE2Z}	cattcgtaca	ccatgggtgcg	gcgccggc-g	-atg-c--at	cg--a--ggg	
Consensus	-----	-----	-----C-	G---G-AC--	--TG-TC---	

	101					150
{mycAV21}	g--t---c-	--g---g-	-g--c--g--	g--g-ggc-g	--c-ggccgc	
{mycPT2Z}	g--t---c-	--g---g-	-g--c--g--	g--g-ggc-g	--c-ggccgc	
{mycML2Z}	g--c---c-	--g---g-	-a--c--a--	g--g-ggc-g	--c-ggccgc	
{mycSI2Z}	c--t---c-	--g---a-	-g--c--g--	g--c-cac-g	--c-gtccgc	
{mycTB21}	g--c---c-	--g---g-	-g--c--g--	c--g-cgc-g	--c-ggccgt	
{mycBO2Z}	g--c---c-	--g---g-	-g--c--g--	c--g-cgc-g	--c-ggccgt	
{mycMA2Z}	g--t---c-	--g---a-	-g--c--c--	g--g-ggc-g	--c-gtccgc	
{mycUL2Z}	g--t---c-	--g---a-	-g--c--c--	g--g-ggc-g	--c-gtccgc	
{mycGA3Z}	g--t---c-	--g---g-	-g--t--g--	g--g-cgc-g	--c-ggcccc	
{mycKA31}	g--t---c-	--g---g-	-g--t--g--	g--g-cgc-g	--c-ggcccc	
{mycGO31}	g--c---c-	--g---g-	-g--c--g--	g--g-ggc-a	--t-gccccgc	
{mycSZ31}	g--c---c-	--a---g-	-g--g--g--	g--g-ggc-g	--c-ggctgc	
{mycLE2Z}	g--c---t-	--c---a-	-g--c--g--	g--g-agt-c	--t-actcgc	

Consensus -AG-TCGT-G GT-TTCCA-C C-AA-CC-AC -CC-A---T- AC-C-----

Figure 8- continued

	151		200
{mycAV21}	cg--c-ga-g	g--a-ggg-g	g-a--a--t- -c--c-gc-- ---c--g--g
{mycPT2Z}	cg--c-ga-g	g--a-ggg-g	g-a--a--t- -c--c-gc-- ---c--g--g
{mycML2Z}	cg--c-gg-g	g--c-agg-g	g-a--a--t- -c--c-gc-- ---c--g--g
{mycSI2Z}	cg--c-ga-g	g--c-ggg-g	g-g--g--t- -c--c-gc-- ---c--g--g
{mycTB21}	gc--c-aa-g	a--c-gcg-c	g-a--g--t- -c--c-gc-- ---c--a--a
{mycBO2Z}	gc--c-aa-g	a--c-gcg-c	g-a--g--t- -c--c-gc-- ---c--a--a
{mycMA2Z}	cg--c-ga-g	a--c-gcg-g	g-a--g--c- -g--c-gg-- ---c--g--a
{mycUL2Z}	cg--c-ga-g	a--c-gcg-g	g-a--g--c- -g--c-gg-- ---c--g--a
{mycGA3Z}	cg--t-.g-g	g--c-gcg-g	g-a--g--t- -g--c-gc-- ---c--g--a
{mycKA31}	cg--t-gg-g	g--c-gcg-g	g-a--g--t- -g--c-gc-- ---c--g--a
{mycGO31}	cg--c-gg-g	a--c-gcg-g	g-g--g--t- -c--c-ag-- ---c--g--a
{mycSZ31}	cg--c-ga-g	a--c-gcg-g	g-a--g--t- -g--c-gc-- ---c--a--a
{mycLE2Z}	cg--c-aa-t	a--c-ggt-g	a-a--a--t- -c--a-gt-- ---t--g--a
Consensus	--GA-A--T-	-TC-A---T-	-C-AT-CT-T T-GC-A--GT GAT-GG-TC-

	201		250
{mycAV21}	--t-cg--cg	---gg--c--	cg-gg-ggac -gc-gc-cc- .-cgaggtg-
{mycPT2Z}	--t-cg--cg	---gg--c--	cg-gg-ggac -gc-gc-cc- .-cgaggtg-
{mycML2Z}	--c-cg--gg	---gc--c--	cg-gg-agac -gc-gc-cc- .-cgacgtc-
{mycSI2Z}	--c-cg--gg	---gc--g--	cg-gg-ggac -gt-gc-cc- .-cgaggtg-
{mycTB21}	--c-cg--cg	---gc--c--	cg-gg-ggca -gc-gg-tc- .-cgacgtc-
{mycBO2Z}	--c-cg--cg	---gc--c--	cg-gg-ggca -gc-gg-tc- .-cgacgtc-
{mycMA2Z}	--c-cg--gg	---gc--c--	cg-ag-cgac -gc-gt-cc- .-cgaggtc-
{mycUL2Z}	--c-cg--gg	---gc--c--	cg-ag-cgac -gc-gt-cc- .-cgaggtc-
{mycGA3Z}	--c-cc--c.	---gc--a--	cg-gg-tgac -gc-tg-ct- .-ggaggtg-
{mycKA31}	--c-cg--cg	---ac--a--	cg-tg-tgac -gt-gg-cc- .-gaaggtg-
{mycGO31}	--c-cg--cg	---ac--g--	tg-cg-cgac -gc-gc-cc- .-cgacgtc-
{mycSZ31}	--c-cg--cg	---gc--c--	cg-gg-ggac -ac-gg-cc- .-agacgtc-
{mycLE2Z}	--t-ag--gg	---gc--c--	ca-ca-gaac -gt-gt-gc- t-ccgatat-
Consensus	TG-T--AC--	GCA--GC-AC	--C--T---- A--C--A--C -G-----A

	251		300
{mycAV21}	cgg-acag-c	c--g----ga	--g-----c gg--cagg--g----
{mycPT2Z}	cgg-acag-c	c--g----ga	--g-----c gg--cagg--g----
{mycML2Z}	cgg-gcac-c	c--g----gg	--c-----c gg--tagc--g----
{mycSI2Z}	ccg-gcac-c	c--g----ga	--g-----c gg--cagc--g----
{mycTB21}	ccg-cgat-c	t--t----gg	--c-----c gg--caac--g----
{mycBO2Z}	ccg-cgat-c	t--t----gg	--c-----c gg--caac--g----
{mycMA2Z}	ccg-cgat-c	c--g----aa	--c-----g gg--cagc--g----
{mycUL2Z}	ccg-cgat-c	c--g----aa	--c-----g gg--cagc--g----
{mycGA3Z}	ccg-tgaa-c	c--a----ag	--c-----c gg--cagg--g----
{mycKA31}	ccg-tgaa-c	c--g----aa	--c-----c gg--cagc--g----
{mycGO31}	cag-acac-c	c--g----gg	--c-----g ga--cagg--g----

{mycSZ31}	ccg-ggcc-c	a--a----aa	--c-----c	gg--cagc--g----
{mycLE2Z}	acc-gcat-t	c--g----aa	--t-----t	ag--atag--	acgcat----
Consensus	---C----G-	-GC-CCCA--	CT-ACCCA-G	--TC----GT	-----CGCA

Figure 8- continued

	301				350
{mycAV21}	-g--g-gg--	g--gggc.-g	c-a.cgcgt-	gccg-tggtc	g-g-gcgcg-
{mycPT2Z}	-g--g-gg--	g--gggc.-g	c-a.cgcgt-	gccg-tggtc	g-g-gcgcg-
{mycML2Z}	-a--g-gg--	g--cggca-g	c-a.cgcgc-	accc-tcgtc	g-a-gggcc-
{mycSI2Z}	-g--g-gg--	g--gggc.-g	c-a.ttcgt-	gccc-tcgtg	g-a-gggcc-
{mycTB21}	-a--g-gg--	g--cggc.-g	c-a.agcgt-	accc-tcgtc	g-a-gggcc-
{mycBO2Z}	-a--g-gg--	g--cggc.-g	c-a.agcgt-	accc-ccgtc	g-a-gggcc-
{mycMA2Z}	-a--a-ga--	g--ggga.-g	c-a.ggaat-	gccc-tcgtt	g-a-gagcg-
{mycUL2Z}	-a--a-ga--	g--ggga.-g	c-a.ggaat-	gccc-tcgtt	g-a-gagcg-
{mycGA3Z}	-a--g-gg--	g--cggc.-g	c-a.cgcgt-	accc-tcgtg	g-a-gggcg-
{mycKA31}	-a--g-gg--	g--cggc.-g	c-a.cgcgt-	accc-tcgtg	g-a-.ggcg-
{mycGO31}	-a--a-gg--	a--gggc.-g	c-t.ctcgt-	tccg-tggtg	g-a-gagcc-
{mycSZ31}	-g--g-gg--	a--gggc.-g	c-a.cgcgt-	actc-tagtg	g-a-gggca-
{mycLE2Z}	-a--g-tg--	g--actgg-c	a-tgatact-	atcc-taacc	a-g-agtgg-
Consensus	T-TA-C--TC	-TC-----A-	-G-----C	---G-----	-G-T-----G

	351				400
{mycAV21}	cctccc-ctt	g-tc--g--a	--c-----t-	-c--c--g--	g-agg-cgca
{mycPT2Z}	cctccc-ctt	g-tc--g--a	--c-----t-	-c--c--g--	g-agg-cgca
{mycML2Z}	cctcgc-ctt	g-cc--g--a	--g-----t-	-c--c--g--	g-acg-ctgg
{mycSI2Z}	cctcgc-ctt	g-tc--g--g	--a-----t-	-t--c--g--	g-acg-tgtg
{mycTB21}	cctggc-ctt	g-cc--g--g	--g-----t-	-g--c--g--	a-acg-gcga
{mycBO2Z}	cctggc-ctt	g-cc--g--g	--g-----t-	-g--c--g--	a-acg-gcga
{mycMA2Z}	cttctc-ctt	g-tt--g--a	--g-----c-	-a--c--g--	g-agg-gtga
{mycUL2Z}	cttctc-ctt	g-tt--g--a	--g-----c-	-a--c--a--	g-agg-gtga
{mycGA3Z}	cttccc-ttt	g-cc--g--a	--c-----t-	-g--c--g--	g-gag-gcga
{mycKA31}	cctccc-ttt	g-cc--g--g	--c-----t-	-g--c--g--	g-aag-gcga
{mycGO31}	cctcgc-ttt	g-tc--g--a	--c-----t-	-g--t--g--	g-agg-gtga
{mycSZ31}	cctccc-ctt	g-tc--g--g	--g-----t-	-a--c--g--	g-acg-ctga
{mycLE2Z}	gtctga-tgg	c-at--c--a	--g-----t-	-g--c--a--	g-act-gcgg
Consensus	-----G---	-A--GG-AT-	TG-GTGTG-T	C-GG-AC-TA	-A---T----

	401				450
{mycAV21}	--c--g--gt	cg--g--a--	ct-cg-g--c	--a--c--a-	ag--g--a--
{mycPT2Z}	--c--g--gt	cg--g--a--	ct-cg-g--c	--a--c--a-	ag--g--a--
{mycML2Z}	--g--g--gt	cg--g--a--	tt-gg-g--t	--c--c--g-	ag--g--g--
{mycSI2Z}	--g--a--gt	cg--g--g--	tt-gg-c--g	--c--c--g-	cg--g--c--
{mycTB21}	--c--g--gc	tt--a--a--	tc-gg-g--c	--g--c--g-	tg--g--g--
{mycBO2Z}	--c--g--gc	tt--a--a--	tc-gg-g--c	--g--c--g-	tg--g--g--
{mycMA2Z}	--g--g--gt	cg--a--g--	tc-cg-c--c	--c--c--a-	cg--g--g--

```

{mycUL2Z} --g--g--gt cg--a--g-- tc-cg-c--c --c--c--a cg--g--g--
{mycGA3Z} --g--a--gt cg--g--c-- tt-cg-g--t --c--c--g ag--c--a--
{mycKA31} --g--a--gt cg--g--c-- tt-cg-g--t --c--g--a aa--g--a--
{mycGO31} --a--a--tg tg--g--a-- tt-cg-t--t --c--a--g aa--a--g--
{mycSZ31} --a--g--gt cg--g--c-- ct-tg-g--c --c--c--g ca--g--g--
{mycLE2Z} --g--g--gc tc--c--a-- ct-ga-t--t --c--g--g tg--g--g--
Consensus AA-CC-TG-- --TC-GC-AG --T--C-GC- GC-GC-GG-G --AT-CC-CG

```

Figure 8- continued

```

451
{mycAV21} g--gc---g --a--ca-a gc-cg--atc ---gcagtg- a.-----a--
{mycPT2Z} g--gc---g --a--ca-a gc-cg--atc ---gcagtg- a.-----a--
{mycML2Z} g--gc---g --a--ta-a gc-cg--atc ---ggacag- a.-----a--
{mycSI2Z} a--ac---g --a--ca-g gc-cg--atc ---gcacag- a.-----a--
{mycTB21} g--gc---g --c--ca-a gt-cg--gtg ---gcaccg- a.-----a--
{mycBO2Z} g--gc---g --c--ca-a gt-cg--gtg ---gcaccg- a.-----a--
{mycMA2Z} g--gc---g --a--ca-a gc-ca--gtc ---.aacag- a.-----a--
{mycUL2Z} g--gc---g --a--ca-a gc-ca--gtc ---.aacag- a.-----a--
{mycGA3Z} g--gc---g --a--ga-a gc-cg--atc ---gaacag- a.-----a--
{mycKA31} g--gc---g --a--ga-a gc-cg--atc ---gaacag- a.-----a--
{mycGO31} a--gc---g --c--aa-g gg-tg--gtc ---gcccc- t.-----a--
{mycSZ31} a--gc---g --a--ta-a gc-cg--atc ---gcaccg- a.-----a--
{mycLE2Z} g--gt---t --a--cg-a tc-cg--gcc ---accaag- at-----g--
Consensus -TC--TGGT- AA-AG--C-A --C--TA--- CAT-----A --TTAGA-CG

```

```

501
{mycAV21} -----t--ct ct-cggggca agctgtcgtg atacggaccg tctcgcgcg
{mycPT2Z} -----t--ct ct-cggggca agctgtcgtg atacggaccg tctcgcgcg
{mycML2Z} -----t--cg gc-gtgggca agcgcgtgcg ccgccgagga tctcgactcg
{mycSI2Z} -----t--ct ct-tggagca agcggccccc gctacgtcga cccgcagacg
{mycTB21} -----c--ct gc-cggggca agcggcc... ..
{mycBO2Z} -----c--ct gc-cggggca agcggcc... ..
{mycMA2Z} -----t--ct cg-cggggca agcggccccc gcgccaatcg gctcggcggg
{mycUL2Z} -----t--ct cg-cggggca agcggccccc gcgccaatcg gcttggcggg
{mycGA3Z} -----t--ct cc-cggggca agcgggtcat ctgccga... tcggcagcgg
{mycKA31} -----t--ct ca-cggggca agcgggtcat ccgccgatcg tcggcagtgg
{mycGO31} -----t--tt tt-gccg... ..ca
{mycSZ31} -----t--.. ct-cgat... ..ga
{mycLE2Z} -----c--ct gc-acggcca agcgggtcgtg ccgacgattt cggcgtcc..
Consensus TGTTC-AC-- --G-----

```

```

551
{mycAV21} ..... .cggtcgtct ccgaagcccg cgggcaagcc aa-ggcgacg
{mycPT2Z} ..... .cggtcgtct gcgaagcccg cgggcaagcc aa-ggcgacg

```

{mycML2Z}	gaccacacaac	actgggtcggc	gccggggcgcg	ccgacaggto	gg-cggccccg
{mycSI2Z}	ggccgctgag	ac.gatcgct	cctgggtcgcg	cctagggggcc	gg-cgctccc
{mycTB21}gtccag	tcgttaatgt	cgcgagcgcc	gg-cgctccg
{mycBO2Z}gtccag	tcgttaatgt	cgcgagcgcc	gg-cgctccg
{mycMA2Z}	atc....gac	ggaggtgatg	gcgctgggtcg	agcgggggca	gg-cgcccgcg
{mycUL2Z}	atc....gac	ggaggtgatg	gcgctgggtcg	agcgggggca	gg-cgcccgcg
{mycGA3Z}tgccggg	gccgggtatcg	cgggcgccaa	gg-cgccacg
{mycKA31}tgacggg	gccgggtatca	cggg.ggcaa	gg-cgccacg
{mycGO31}gccgacc	ccctgcggcg	acgggcacta	gt-gtcagag
{mycSZ31}gcaagcg	gcccgggtcgg	ccgacgagca	gg-cggccccg
{mycLE2Z}atcggt	ggtaggcgag	ctgacacgca	gg-cgtgccg
Consensus	-----	-----	-----	-----	--T-----

Figure 8- continued

	601				650
{mycAV21}	-caccggccg	tcgcac-tg-	-cta----g-	gtgat--acc	gtgtcgc...
{mycPT2Z}	-caccggccg	tcgcac-tg-	-cta----g-	gtgat--acc	gtgtcgc...
{mycML2Z}	-cacgggccc	ccgaac-tg-	-cta----g-	gtgat--atc	gcgtcgcaac
{mycSI2Z}	-cgaccccg	tcgaac-tg-	-cta----g-	ttgat--gtc	gcg.cgtaac
{mycTB21}	-cagcggcac	ccgaac-tg-	-cta----g-	ttgat--a..
{mycBO2Z}	-cagcggcac	ccgaac-tg-	-cta----g-	ttgat--a..
{mycMA2Z}	-cgcgagcac	ccgaac-tg-	-cta----g-	ttggtt--a..
{mycUL2Z}	-cgcgagcac	ccgaac-tg-	-cta----g-	ttggtt--a..
{mycGA3Z}	-cgtgagtac	ccggcc-tg-	-cta----g-	gtcat--a..
{mycKA31}	-cgcgagtac	caggcc-tg-	-cta----g-	gtcat--a..
{mycGO31}	-tgcgctagc	gtgggt-at-	-aat----c-	caggc--t..
{mycSZ31}	-cgcgaccag	cagaac-tg-	-cta----g-	ttgat--a..
{mycLE2Z}	-cgcggtcgc	cctaac-tg-	-cta----t-	atgat--aat	gcgcccgaac
Consensus	G-----	-----G--C	G---GCGT-G	-----CG---	-----

	651				700
{mycAV21}tcgcgc	agtgaacgcgc	ctgcaagcac
{mycPT2Z}tcgcgc	agtgaacgcgc	ctgcaagcac
{mycML2Z}	gcaagatctc	gaaggtgttt	tcaaaggcgg	cgcg....c	ctggaagtgc
{mycSI2Z}	gcaaacgcgg	gcacgcctg	gcgtcaccga	cgggagagcc	ctgcagacac
{mycTB21}atcgcgctcg	ccgggagcac
{mycBO2Z}atcgcgctcg	ccgggagcac
{mycMA2Z}atcgcgctcg	cagggacca.
{mycUL2Z}atcgcgctcg	cagggacca.
{mycGA3Z}at
{mycKA31}at
{mycGO31}ac
{mycSZ31}gt
{mycLE2Z}	gtaagcgctg	cca.atttgg	gcgtttatcc	aacggtgcgc	atgggagcac
Consensus	-----	-----	-----	-----	-----

	701		750
{mycAV21}	c-cgtcgcat	cgcaac....	.cgtggcgcc cgctcggcac taaaaggcag
{mycPT2Z}	c-cgtcgcat	cgcaac....	.cgtggcgcc cgctcggcac taaaaggcag
{mycML2Z}	a-cgtcgcg	cgcaaatg	cgctcgc... ..tgagggtc ttgaaggcac
{mycSI2Z}	g-cgtcgcac	tgcagcagtg	acgtcgcgcc cgacgaggtc ttgaaggcac
{mycTB21}	a-cgtcgcac	tgcaccag..
{mycBO2Z}	a-cgtcgcac	tgcaccag..
{mycMA2Z}	a-cgtcgcaa	tgcagcagcg	gcgccgcgac ggcgc.....
{mycUL2Z}	a-cgtcgcaa	tgcagcagcg	gcgccgcgac ggcgc.....
{mycGA3Z}	t-tgtcgtag	ggagcaatcg	tcgcattgca gcaggcg.ta gcgacggcac
{mycKA31}	c-tgtcgtag	ggagcaatcg	tcgcattgca gcaggcg.ta gcgacggcac
{mycGO31}	c-cgtcgtgc	cgaagcagag	gggccgtgac ggcaccg...
{mycSZ31}	c-c.....	gcaccggaaa gcaaccg...
{mycLE2Z}	a-cgttgtag	tgcagcagtg	gcgccgtgacggcac
Consensus	-G-----	-----	-----

Figure 8- continued

	751		782
{mycAV21}	tggaagcaac	a-----gcc	-----t -t
{mycPT2Z}	tggaagcaac	a-----gcc	-----t -.
{mycML2Z}	tggaagcaat	a-----gcc	-----t -.
{mycSI2Z}	tggaagcaac	a-----gcc	-----t -.
{mycTB21}	t-----gcc	-----t -g
{mycBO2Z}	t-----gcc	-----t -.
{mycMA2Z}	.gcaagtaac	a-----gcc	-----t -.
{mycUL2Z}	.gcaagtaac	a-----gcc	-----t -.
{mycGA3Z}	cggaggtaac	a-----gcc	-----t -.
{mycKA31}	tggaaggtaac	a-----gcc	-----t -.
{mycGO31}	.gaagcaa.c	a-----ctt	-----c -g
{mycSZ31}	.gaagtaatc	a-----gcc	-----t -g
{mycLE2Z}	tggaataaac	a-----gcc	-----t -.
Consensus	-----	-GGAGGA---	ATGACCTAC- C-

Figure 9. Alignment of three Mycobacterial us-p34 sequences (*M. tuberculosis*, *M. avium* and *M. intracellulare*).

Parameters used for sequence alignment :

gap creation penalty = 5 ; gap extension penalty = 1

```

1                                     60
{mycTB21} tcatagcagg cctcctcttg ggtccacaac gcccgcatcg cctcgaggta ttcgcgcagc
{mycAV21} tcgtagctgg cttcctcgtc ggtccacagc gcccgcatcg cttccaggta ttcgcgcagc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

61                                     120
{mycTB21} atggtgcggc ggcgtccggg tggcacacca tgatcgacga gctcgtcggg gttccagccg
{mycAV21} atggtgcggc gccggcccgc cggcacgccg tggtcggcga gttcgtcggg gttccagccg
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

121                                     180
{mycTB21} aaccgacccc cgacgtgac ccggccgtgc gacaaatgat ccagcgtcgc aatgcttttc
{mycAV21} aaccgacgcg cgaggctgac ccggccgccg gacagatggt caagggtggc aatacttttc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

181                                     240
{mycTB21} gccagcgtga tcggatcatg ctcgaccggc agcgccaccg cggtaggcaag ccggatccgc
{mycAV21} gccagcgtga tcgggtcgtg ttcgaccggc agggccaccg cggtaggacag ccgcacccgc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

241                                     300
{mycTB21} gacgtcaccg ccgatgctgc tcccaggctc acccacgggt ccaacgtcgc catatagcgg
{mycAV21} gaggtgacgg cacaggccgc gccagactg acccacgggt ccagggtcgc catgtagcgg
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

301                                     360
{mycTB21} tcgtccggca gcgaagcgtc acccgtcgtc ggatggggcg cctggcgctt gaccgggatg
{mycAV21} tcgtccggca gcgacgcgtc gccggtggtc gggcgcgcg cctcccgtt gatcgggata
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

361                                     420
{mycTB21} tgggtgtgtt cgggcacgta aaacgtgcga aaccctggc tttcagcaag tctggcggcc
{mycAV21} tgcgtgtgtt ccggcacgta gaaggtcgca aaccctggg cgtcggcaag cttcgcggcc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

421                                     480
{mycTB21} gcggccgggg tgatgccgcg gtcgctggtg aacagcacia gtccgtagt catgcaccga
{mycAV21} gcagccggag agatgccacg gtcgctggtg aaaagcacia gcccgtaac catgcagtga
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

481                                     540
{mycTB21} attagaacgt ---c---g c--c-g--- --ggcc--cc agtc-ttaa- g-----
{mycAV21} attagaacgt ---t---c t--g-g--- --tgtc--ga tacg-accg- c---cgcgc
{mycIN4Z} ..... ---t---g t--t-a--- --tccg--ga tacc-accg- c---cggag
Consensus ----- GTTC-ACCT- -GC-G-GCAA GC---GT-- ---G---T -TCGC-----

```

541

600

721

{mycTB21}	-----g
{mycAV21}	-----t
{mycIN4Z}	-----.
Consensus	CCTACTC-

gap creation penalty = 50 ; gap extension penalty = 3

Percent Similarity: 45.749 Percent Identity: 45.749

Percent Similarity: 69.795 Percent Identity: 69.795

```

51  TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
1   .....GTGCGACGACGGCCGGCCAGCACGTTATGGTTCGGCGA 37
      .
101 GCTCGTCGTTGTTCCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
38  GCTCGTCGTTGTTCCAGCCGAACCCGACCCGAGGCTAACTCGCCCGCCG 87
      .
151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
88  GACAGGTGATCCAGCGTGGCGATGCTTTTCGCCAAGGTGATCGGGTCATG 137

```


Figure 10-continued

M. Tuberculosis x *M. Avium*

Percent Similarity: 77.504 Percent Identity: 77.504

```

1 TCATAGCAGGCCTCCTCTTGGGTCCACAACGCCCGCATCGCCTCGAGGTA 50
  |||||
1 TCGTAGCTGGCTTCCTCGTCGGTCCACAGCGCCGCATCGCTTCCAGGTA 50
                                     .
51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
  |||||
51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGCCGGCCCGCGGCACGCCGTGGTTCGGCGGA 100

```

201 CTCGACCGGCAGCGCCACC CGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTCACCG 250
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
201 TTCGACCGGCAGGGCCACC CGGTGGACAGCCGCCACCCGCGAGGTGACGG 250
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
251 CACAGGCCGCGCCAGACTGACCCACGGGTCCAGGGTGCGCATGTAGCGG 300
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCACCCGTCGTCGGATGGGCGGCCTGGCGCTT 350
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
301 TCGTCGGGCAGCGACGCGTCGCCGGTGGTCGGGTGCGCGGCCTCCCGCTT 350
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 GACCGGGATGTGGGTGTGTTCCGGGCACGTAAACGTGCGAAACCCGTGGC 400
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
351 GATCGGGATATGCGTGTGTTCCGGGCACGTAGAAGGTGCGAAACCCGTGGT 400
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 TTTCAGCAAGTCTGGCGGCCCGGCCGGGTGATGCCCGGTCGCTGGTG 450
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
401 CGTCGGCAAGCTTCGCGGCCCGAGCCGAGAGATGCCACGGTCGCTGGTG 450
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
451 AACAGCACAAGTCCGTAGTGCATGCACCGAATTAGAACGTGTTCCACCTG 500
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
451 AAAAGCACAAGCCCGTAATCCATGCAGTGAATTAGAACGTGTTCTACCTC 500
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
501 CGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGC..... 535
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
501 TGCGGGGCAAGCTGTCGTGATACGGACCGTCTCGCCGCGCGGTGCTCTCC 550
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
536GAGCGCCGGTCGCTCCGGCAGCGGCACCCGAACGTGCGC 574
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
551 GAAGCCCGCGGGCAAGCCAATGGCGACGGCACCGGCCGTGCGACGTGCGC 600
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
575 TAGCGTGGTTGATCG.....AATCGCGTCGCCGGGAGCA 608
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
601 TAGCGTGGGTGATCGACCGTGTGCTCGCTCGCGCAGTGACGCGCTGCAAGCA 650
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
609 CAGCGTCGCACTGCACCAAGTGGAGGAGCCATGACCTACTCG..... 649
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
651 CCGCGTCGCATCGCAACCGTGGCGCCCCGCTCGGCACTAAAAGGCAGTGGA 700

Percent Similarity: 43.220 Percent Identity: 43.220

51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
 1GTTCTACCTGTGCTGAGC 18
 101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
 19 AAGCTCCGGTGATACCGACCGTCTCGCCGAGGGCCGCGGGGGCCTCGC 68
 151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
 69 CGCCCAAGACAGTGGCGGCGCCACCGGTTCCCGCACGTGCGC.TAGCGTG 117

Figure 10-continued

201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTCACCG 250
 118 GGTGATCGACCGCG...TCGCAATGCGGTGACGCGCCTGCAAGCACAGCG 164
 251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300
 165 TCGCATCGCCACCGCGGCGCCCGCTCGGCACTTAAAGGCACTGGTAGCAA 214
 301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCAACCGTCGTCGGATGGGCGCCTGGCGCTT 350
 215 CAGGAGGAGCCATGACCTACTC..... 236

M. Tuberculosis x M. Simiae

Percent Similarity: 75.655 Percent Identity: 75.655

1 TCATAGCAGGCCTCCTCTTGGGTCCACAACGCCCGCATCGCCTCGAGGTA 50
 1 TCGTATTGGGCTTCTTCTGCGTCCACAGCGCCCGCATGGCTTCCAGGTA 50
 51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
 51 CTCGCGCAGCATGGTCCGCGGCGCGCCGGCGGCACGTGTGTTGTCGGCCA 100
 101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
 101 GTTCGTTCGGTGTTCGAACCGAACCCGACGCCACACTGACCCGTCCGCCG 150
 151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
 151 GACAGATGGTCCAGGGTGGCGATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGGTCGTG 200
 201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTCACCG 250
 201 CTCGACGGGCAGCGCGACCGCGGTGGACAGTCGCACCCGCGAGGTGACCG 250
 251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300

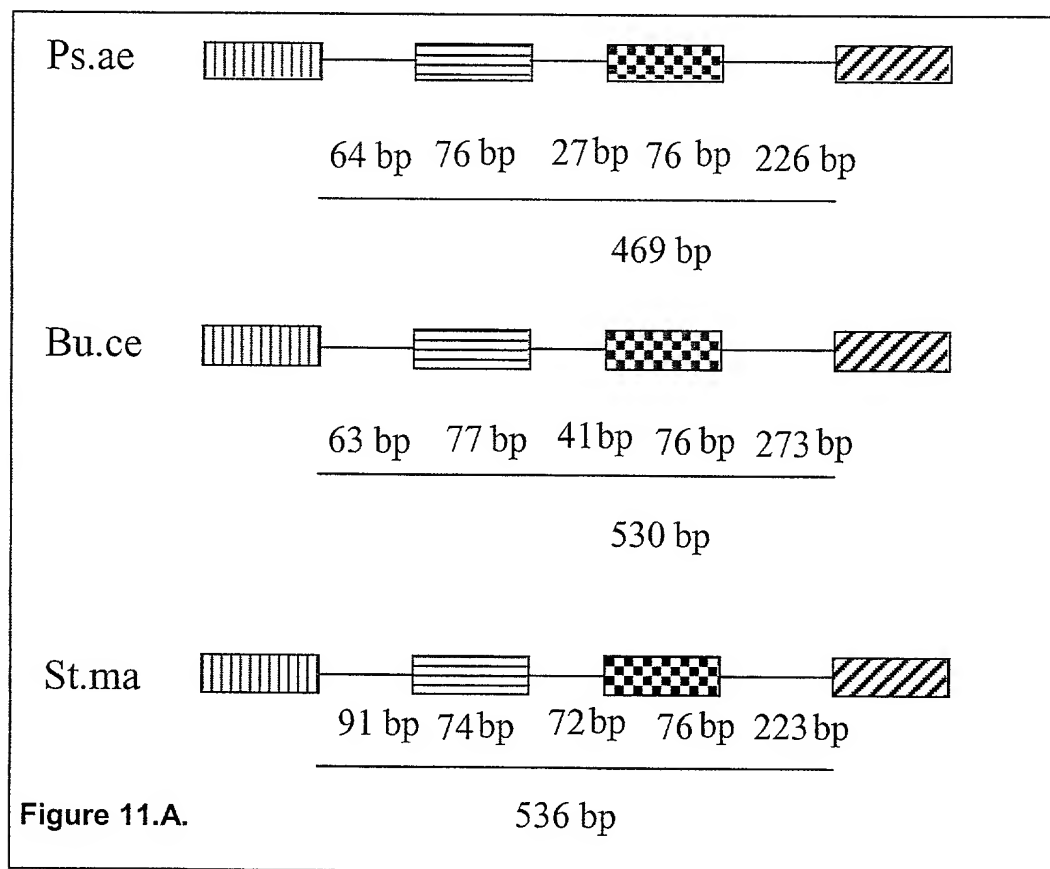
Figure 10-continued

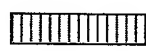
```

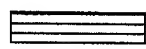
501 CGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGCGA..... 537
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
501 TGTGGAGCAAGCGCCCCCGCTACGTCGACCCGAGACGGGCGCGTGAGA 550
    .
538 .....GCGCCGGTCGCTCCGGCAGCGGCACCC 564
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
551 CGATCGCTCCTGGTCGCGCCTAGGGGCGCGTCCCGCGCACCCGCTC 600
    .
565 GAACGTGCGCTAGCGTGTTGATCGAATCGCGTCGCCGGGAGCACAGCGT 614
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
601 GAACGTGCGCTAGCGTGTTGATCGGTGCGCGCTAACGCAAACGCGGGCA 650
    .
615 CGCACTG...CACCAGTGAGGAGCCATGACCTACTCG..... 649
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
651 CGCCCTGGCGTCAACGACGGGCGAGCCCTGCAGACACGGCGTCGCACTGC 700


```

Figure 11A. Organisation of the *rmn* operon of *Pseudomonas aeruginosa* (Ps. Ae), *Burkholderia cepacia* (Bu. ce) and *Stenotrophomonas maltophilia* (St. ma).



 = RNA 16S (3' end)

 = tRNA Isoleucine

 = tRNA Alanine


 = tRNA 23S (5' end)

Figure 11B. Comparison of the sequences flanking the regions encoding 16S and 23S RNA from *Pseudomonas aeruginosa* (Ps. Ae) (SEQ ID NO 76), *Burkholderia cepacia* (Bu. ce) (SEQ ID NO 77). CNS (consensus).

```

1                                     60
Bu.ce. ----- tta-- g-- ----- a--
Ps.ae. ----- gct-- a-- ----- g--
CNS   GCCCGTCACA CCATGGGAGT GGGTT--CC AGAAGT-GCT AGTCTAACCG CAAGG-GGAC

61                                     120
Bu.ce. ---c----- -tag----- ----- tc---g
Ps.ae. ---t----- -agt----- ----- gg---c
CNS   GGT-ACCACG G---GATTCA TGA CTGGGGT GAAGTCGTAA CAAGGTAGCC GTA--GGAA-

121                                     180
Bu.ce. g----- -tcca-gct ----.a- aagt-g---g -t---g-tt-
Ps.ae. c----- -aatc--aga ----a--tt- ttca-a---t -c---a-ga-
CNS   -TGCGGCTGG ATCACCCTCT T----GA--- TCTC-GC--C ----T-AGC- C-CAC-C--A

181                                     240
Bu.ce. -cg---gt-a attaaa-ac- ---tcag--- ----- -c----- -a-cgt-t
Ps.ae. -.t---tg-t tcactg-tt- ---gatt--- ----- -t----- -g-acc-c
CNS   T-GCT--A- -----G--A GAC---GGG TCTGTAGCTC AGT-GGTTAG AGC-C---C-

Ile
241                                     300
Bu.ce. -----cg- g---ttg -----c aa----- -t-gtc- -gc---aaca
Ps.ae. -----t- a---gca -----t gc----- -a---- -tt---gtgc
CNS   TGATAAGG- G-GGTCG--- GTTCGAATC- --CCAGACCC ACCA-T---T G--GGT---

301                                     360
Bu.ce. ca-c---gg- a-atctg--- atg---g--- ----- a-- -----a
Ps.ae. tg-g---tc- g-..... -c----- -g--- -----c
CNS   --C-TGA--C -A-----TAC ---GGG-CAT AGCTCAGCTG GGAGAGC-CC TGCTTTGCA-

361                                     420
Bu.ce. ----- gtcg----- -cgtc--c -----a-- -acc---gct --gggc-t-g
Ps.ae. -----a- agga----- -tcct-g ----- -taa---... -c-t
CNS   GCAGG-GGTC -GTTCTGA TCC---TG- CTCCACC-AT C---AAC--- AA---T-G-

421                                     480
Bu.ce. ttc-ga-a-t ---cc--gaa ---ttgc-t-- gcg-----gc cag--a-agg a-at--a---
Ps.ae. cga-ag-t-a ---at--atg ---cgtg-a-- aac----- .tt--t-gtc t-tg--c---
CNS   --A--C-C- GAA--GA--- TT---A-TG ---ATTGA-- ---TC-G--- -T--CA-CAG

481                                     540
Bu.ce. -tatcgg-g tc----- -c---ct--a agaa---a-- aatttg--- gcg---cgt
Ps.ae. -....a-- .----- -a---tc-- .-----t-- .-----
CNS   A-----CT- --GTTCTTTA A-AAT--GG- ----GTA-GT -----GATA ---GAAG---

541                                     600
Bu.ce. ct-g---tg- -cg--ga-a- -a-cggg-t -----tg-a- -g-tgt-tct c--g--ga-t
Ps.ae. ..a---ct- -a---t- -c-ttcac-g -----ca-. -a-gtc-agg t--a--t-g
CNS   --T-AGA--G A-TG--A-C T-T-----T- GTGAT--T-T C-A---A--- -AA-AT--T-

601                                     660
Bu.ce. ---ac--t-- -ttt-actc- ---ggaa-a- ---ac--c-c ga-aac---a cc-g---g-
Ps.ae. ---gt--- -cgc----- -t-----t- ---g--t- tc-tct---c ag-a---c-
CNS   CGA--TC-AA G---G---A ATT-----T-C GGC--AA-G- --G---TCA- --T-TAAC-A

661                                     720
Bu.ce. --ca-ac.. c-----g-- -----c---c ---t---gt -----
Ps.ae. --tt-ct-gg g-----t-- -----t---g ---c---ac -----
CNS   GA--G--T-- -GTTATA-GG TCAAG-GAA- AAG-GCAT-- GGTGGATGCC TTGGCRRTCA

```

16S

tRNA

tRNA-
ala

23S

Figure 12. Discrimination by multiplex PCR.

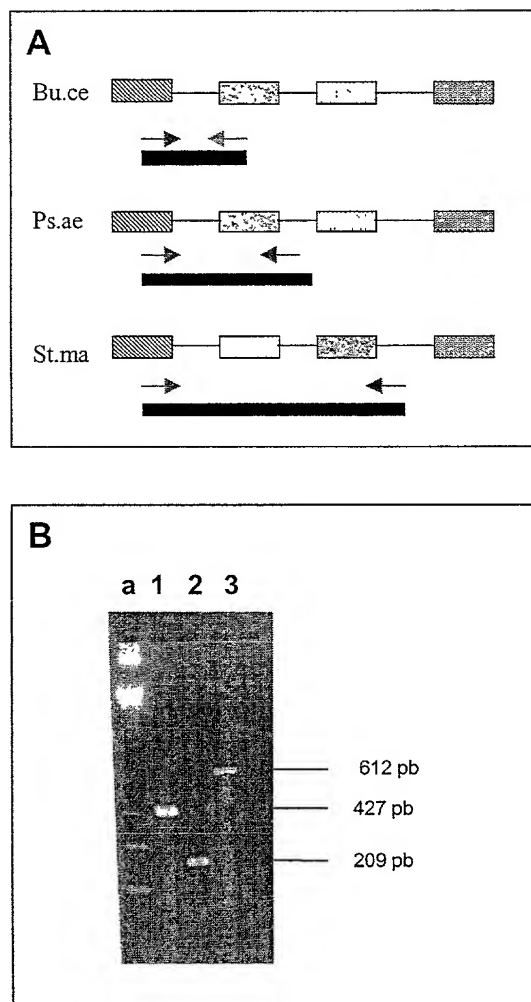


Figure 13. Multiplex PCR sensibility validation

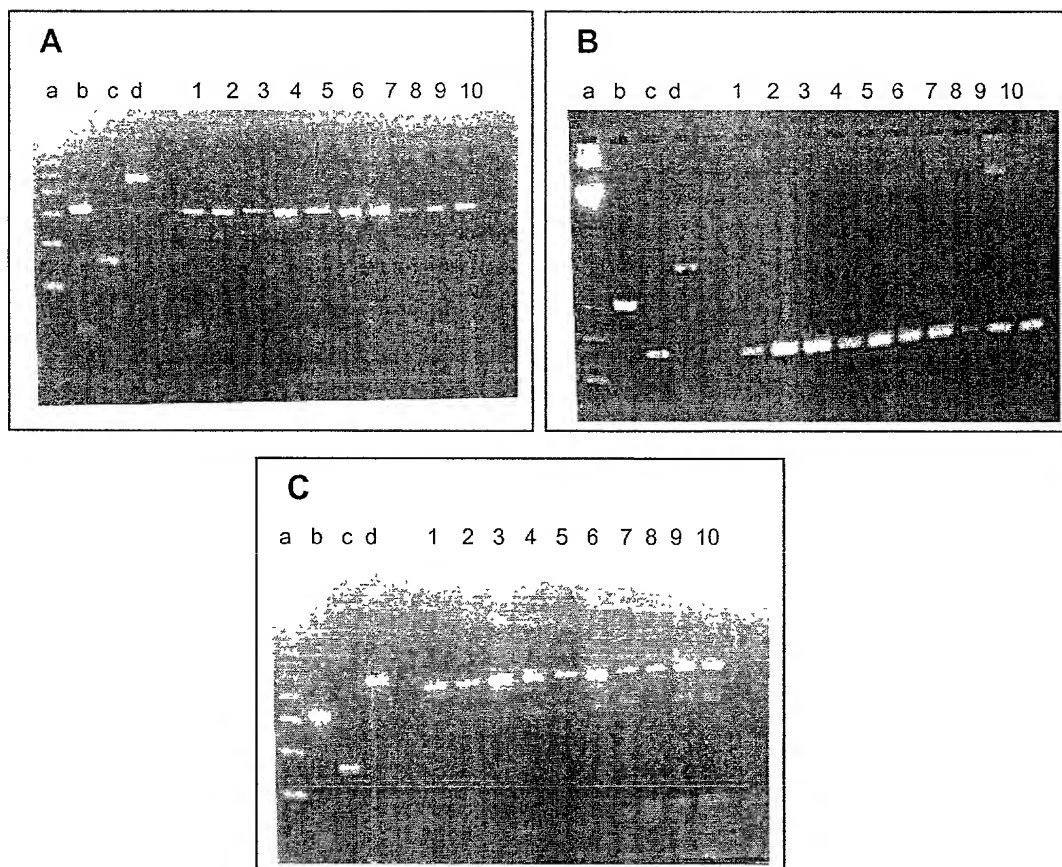


Figure 14. Multiplex PCR specificity validation

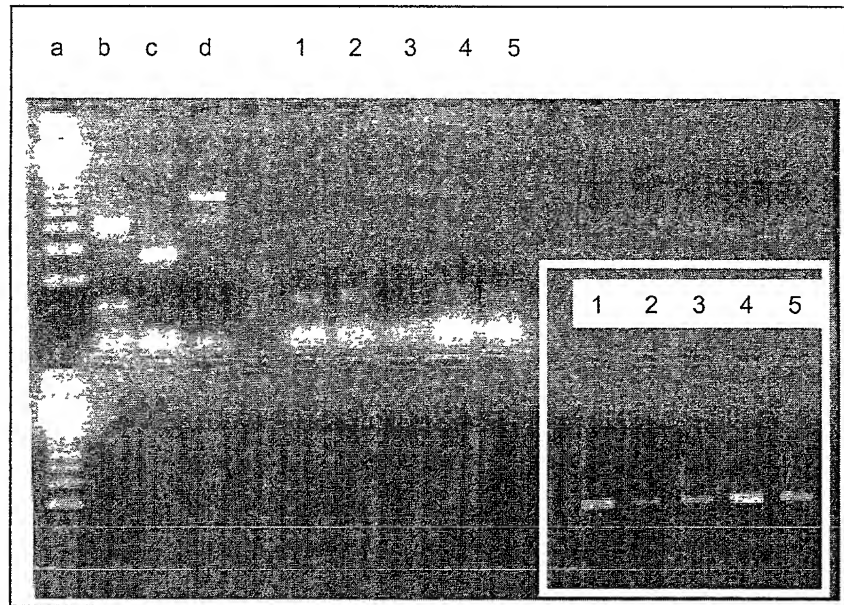


Figure 15. Reverse hybridisation for the discrimination between *Ps. aeruginosa*, *Bu. cepacia* and *St. maltophilia*

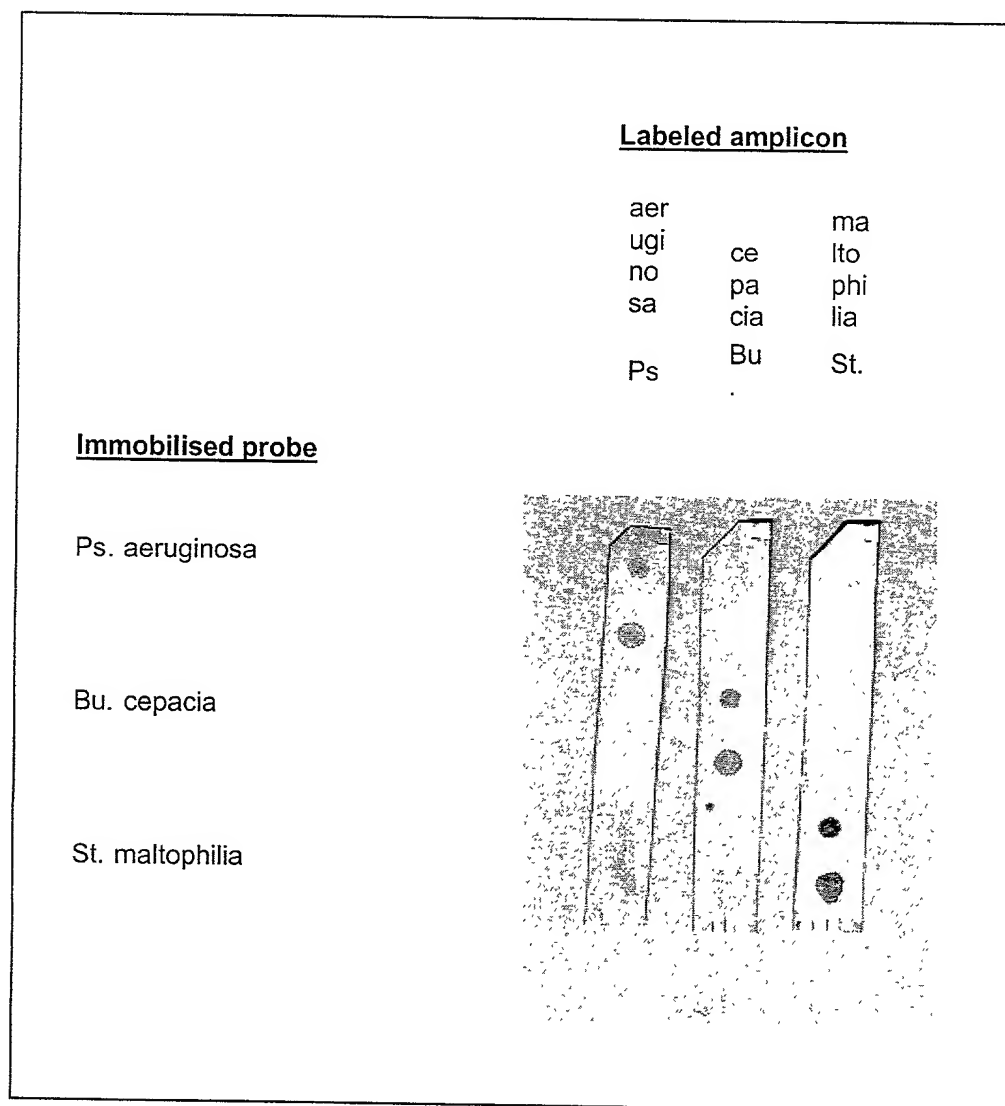


Figure 16. Visualization of the second *rm* operon from *Ps. putida*

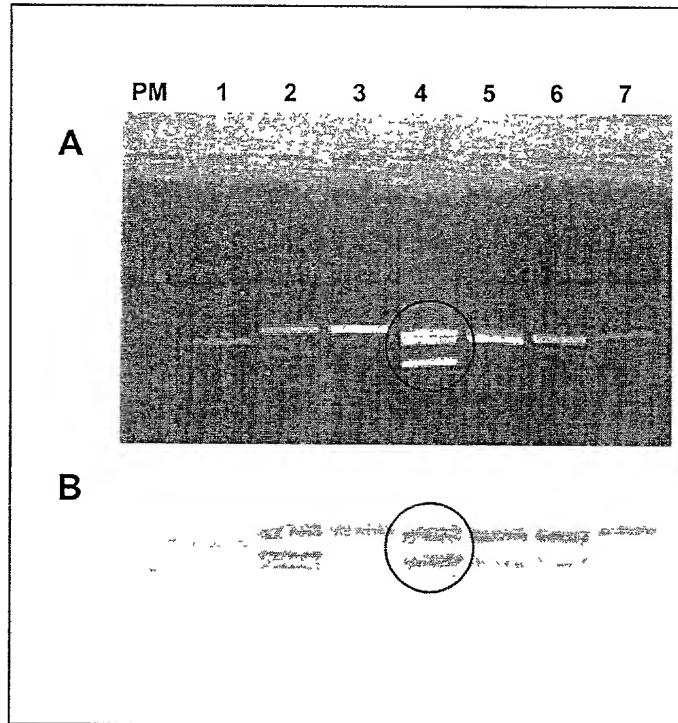


Figure 17. Alignment of the two *rm* operon sequences from *Ps. putida*. First (top) sequence is SEQ ID NO 78, second (bottom) sequence is SEQ ID NO 79.

```

5  GGGTTCCCCGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGT 54
   |||
1  GGTTCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGT 50
   |||
55 GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCT 104
   |||
51 GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCT 100
   |||
105 GCGGCTGGATCACCTCCTTAATCGACGACATCAGCCTGCTGATGAGCTCC 154
   |||
101 GCGGCTGGATCACCTCCTTAATCGACGACATCAGCCTGCTGATGAGCTCC 150
   |||
155 CACACGAATTGCTTGATTCAATTGTCGAAGACGATCAAGACCCTATATG 204
   |||
151 CACACGAATTGCTTGATTCTTTGTAAAAGACGATCAAGGCCTTGTGCAGG 200
   |||
205 TCTGTAGCTCAGTTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAGGTCCGCA 254
   .....
255 GTTCAAATCTGCCAGACCTACCAATATGCGGGGCCATAGCTCAGCTGGG 304
   .....
305 AGAGCGCCTGCCTTGACGAGGAGGTGAGCGGTTTCGATCCCGCTTGGCT 354
   .....
355 CCACCACTCGCTTTACTTGATCAGAACTTAGAAATGAACATTCGTTGATG 404
   |||
201 .. CCTCGCGTTGTTCTGATCAGAACTTGAAATGAGCATTGCT.TCG 246
   |||
405 AATGTTGATTTCTGACTTTTGTGATCGTTCTTTAAAAATTTCGGATATG 454
   |||
247 AATGTTGATTTCTGGCTTTTGTGATCGTTCTTTAAAAATTTCGGATATG 296
   |||
455 TGATAGAAATAGACTGAACACCAGTTTCACTGCTGGTGGATCAGGCTAAG 504
   |||
297 TGATAGAAATAGACTGAACACCAGTTTCACTGCTGGTGGATCAGGCTAAG 346
   |||
505 GTAAAATTTGTGAGTTCTGCTCGAAAGAGCAACGTGCGAATTTTCGGCGA 554
   |||
347 GTAAAATTTGTGAGTTCTGCTCGAAAGAGCAACGTGCGAATTTTCGGCGA 396
   |||
555 ATGTCGTCTTCACAGTATAACCAGATTGCTTGGGGTTATATGGTCAAGTG 604
   |||
397 ATGTCGTCTTCACAGTATAACCAGATTGCTTGGGGTTATATGGTCAAGTG 446
   |||

```

204460 " 5444604

Figure 18. Alignment and consensus sequence between *Pseudomonas aeruginosa* (ps.msf{padfc}), *Burkholderia cepacia* (ps.msf{pcdfg}) and *Stenotrophomonas maltophilia* (ps.msf{xmdfa}).

5		1	60
	ps.msf{padfc}	----- gg--gct-- ----ta-c- --tc-----g caa--g--a-	
	ps.msf{pcdfg}	----- gg--tta-- ----tg-c- --tc-----g caa--a--a-	
	ps.msf{xmdfa}	----- tt--gca-- ----ca-g- --ct-----t tcg--a--g-	
10	Consensus	<u>GCCCGTCACA CCATGGGAGT</u> --GTT--CC AGAAG--G-T AG--TAACC- ---GG-GG-C	
		61	120
	ps.msf{padfc}	-g-tac---- -agtgattc- ----- ---gg----c	
	ps.msf{pcdfg}	-g-cac---- -taggattc- ----- ---tc----g	
15	ps.msf{xmdfa}	-c-t.g---- -t.gctgcg- ----- ---tc----g	
	Consensus	G-T--CACG G-----A TGA CTGGGGT GAAGTCGTAA CAAGGTAGCC GTA--GGAA-	
		121	180
	ps.msf{padfc}	c----- -aatc...a gatct-ag-t t-ttcataa- -tccca-a-g	
20	ps.msf{pcdfg}	g----- -tcca...g cttct-.g-. a-aagttga- -gctca-g-t	
	ps.msf{xmdfa}	g----- -ttga-ca-a gacag-at-g t-ctgtcgg- -gtctt-a-a	
	Consensus	-TGCGGCTGG ATCACCTCCT T----G--A- ----C--C- -C-----G C-----C-C-	
		181	240
25	ps.msf{padfc}	a-t.tg--tg -ttcactggt t..ag--gat tg--t-tg-a gctc---tgg --aga-cg-a	
	ps.msf{pcdfg}	t-tcgg-- <u>gt</u> - <u>aattaaaga</u> <u>c..ag--tca</u> <u>gg</u> --t-tg-a gctc---cgg --aga-ca-c	
	ps.msf{xmdfa}	a-gtac--gc -ttcagagaa tcaca--ggc ca--c-ga-g tgag---ccc --ttg-gc-t	
	Consensus	-A---CT-- A----- ----AC-- --GG-C--T- ----AGT-- TT--G--C-	
30		241	300
	ps.msf{padfc}	cccc-g-taa --.t-a-gt- ggcag--cg- -t-tgcccag ac-caccaat ...t-ttg-t	
	ps.msf{pcdfg}	gtct-g-taa --cg-g-gt- gttgg--cg- -t-caaccag ac-caccatt gtct-gcg-t	
	ps.msf{xmdfa}	tagc-c-gct --ga-a-ca- ctgct--gc- -g-aggggtc gt-ggttcga tccc-aca-	
	Consensus	----T-A-- GG--G-G--C ----TT--A A-C----- --C----- ----G--G-	
35		301	360
	ps.msf{padfc}	gtgctg-g-- atccga.... -...g-g c-a-ag-tc- -ct-gga-ag -gc-tgct-t	
	ps.msf{pcdfg}	aacaca-c-- aggcaaatct g---atgg-g g-a-ag-tc- -ct-gga-ag -ac-tgct-t	
	ps.msf{xmdfa}	ctccac-a-- ttcgagctgt a--cgaa-t c-c-tt-ga- -.a-ccc-ca -at-catg-g	
40	Consensus	-----C-TG ----- -TAC---G- -C-T--C--A G--G---G-- C--C---T-	
		361	420
	ps.msf{padfc}	gc-cgcagga ggtcaggag- ---atc-tcc t-gg---cac c.a- <u>ctaaaa</u> -...aa....	
	ps.msf{pcdfg}	gc-agcagg. ggtcgctcgg- ---atc-cgt c-gc---cac caa-caccaa -gctaagggc	
45	ps.msf{xmdfa}	ct-ctttttg aaaaagcct- ---ggg-tg. .ag--agg tgg-tagacg -accctgata	
	Consensus	--A----- -T----- TCG---C--- -T--CTC--- --T----- C-----	
		421	480
	ps.msf{padfc}	<u>tc-tcgaaag</u> -tcagaaat- -atg-.tcgt g-atgaac-- -ga...tttc t-gtctttg-	
50	ps.msf{pcdfg}	tt-gttcaga -actgaacc- -gaa..tttg c-ttggcg-- -gagccagtc a-aggatat-	
	ps.msf{xmdfa}	ag-gtgaggt -ggtagttc- -gtc-accga g-cccacc-- -.ctctgaa t-acgcata-	
	Consensus	--G----- C-----G A--T----- -A-----AT T----- -G-----C	
		481	540
55	ps.msf{padfc}	-cca--.... .ac...gtt -t-t-aa-a- tc--....g tat--.... .g-t...-a	
	ps.msf{pcdfg}	-aca--tatc ggc-gtcggt -t-t-ac-a- ct--aagaag taa--aattt gg-t-gcg-a	
	ps.msf{xmdfa}	-ttc--tct. ...-tatacg -a-c-gc-c- gt--ctggta cgt--tcttt ta-a-ctt-t	
	Consensus	A--GA---- -T----- C-T-A--A-T --GG----- --GT----- --A-A--G-	

204424200T

Figure 18 -continued

5
 ps.msf{padfc} 541 600
 ps.msf{pcdfg} ag.....ta- -actga.atg ..at--c-tt cactg--ga- cat.tca-gt caaggt-aa.
 ps.msf{xmdfa} agcgtcttg- -atggacgtg gaaa--a-cc ggggtt--ga- tgtatcg-tg tatctc-ag.
 Consensus gacgtagcg- -cgtttgaga tggt--a-ca gacgt--cg- gaggcta-gg cgagag-cgc
 -----A G----- ----CT-T-- ----GT--T -----A-- -----A--

10

15
 ps.msf{padfc} 601 660
 ps.msf{pcdfg} -t.ttg-.ga gt-c.aa-cg cg....a---t--- - .gaatg.tc gtcttcacag
 ps.msf{xmdfa} -tgatt-.ga ac-ctaa-tt tgactca--- ggaa-a--- -acaacgcga gaactcaacc
 Consensus -agtct-ttt at-gatt-ag tcgttat--- cgta-c-g-- -ttgtaccc ccgggtcgtg
 A-----C--- --T---G-- -----ATT ---T-C-GG C-----

20

25
 ps.msf{padfc} 661 720
 ps.msf{pcdfg} -a---c..- -attgct-gg g-----t-- ----t---g ---c---tac -----
 ps.msf{xmdfa} -g---g..- -acagac-- c-----g-- ----c---c ---t---tgt -----
 Consensus T-TAAC---A G-----T-- -GTTATA-GG TCAAG-GAA- AAG-GCA--- GGTGGATGCC

30
 ps.msf{padfc} 721 737
 ps.msf{pcdfg} -----
 ps.msf{xmdfa} -----
 Consensus TTGGCRRTCA SAGGCGA

204720-944007

Figure 19. Alignment between *Pseudomonas aeruginosa* (ps.msf{padfc}) (SEQ ID NO 80), *Burkholderia cepacia* (ps.msf{pcdfg}) (SEQ ID NO 81) and *Stenotrophomonas maltophilia* (ps.msf{xmdfa}) (SEQ ID NO 82), as in Figure 18 but without consensus sequence.

```

5      Symbol comparison table: GenRunData:pileupdna.cmp  CompCheck: 6876

      GapWeight: 1
      GapLengthWeight: 1

10     ps.msf  MSF: 737  Type: N
      Name: padfc      Len:   737  Check: 1233  Weight:  1.00
      Name: pcdfg      Len:   737  Check:   773  Weight:  1.00
      Name: xmdfa      Len:   737  Check: 3019  Weight:  1.00

15     //

      1                                           50
      padfc  GCCCCGTCACA CCATGGGAGT GGGTTGCTCC AGAAGTAGCT AGTCTAACCG
      pcdfg  GCCCCGTCACA CCATGGGAGT GGGTTTTTACC AGAAGTGGCT AGTCTAACCG
20     xmdfa  GCCCCGTCACA CCATGGGAGT TTGTTGCACC AGAAGCAGGT AGCTTAACCT

      51                                           100
      padfc  CAAGGGGGAC GGTTACCACG GAGTGATTCA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA
      pcdfg  CAAGGAGGAC GGTCAACACG GTAGGATTCA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA
25     xmdfa  TCGGGAGGGC GCTT.GCACG GT.GCTGCGA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA

      101                                          150
      padfc  CAAGGTAGCC GTAGGGGAAC CTGCGGCTGG ATCACCTCCT TAATCG..AA
      pcdfg  CAAGGTAGCC GTATCGGAAG GTGCGGCTGG ATCACCTCCT TTCCAG..AG
30     xmdfa  CAAGGTAGCC GTATCGGAAG GTGCGGCTGG ATCACCTCCT TTTGAGCAAA

      151                                          200
      padfc  GATCTCAGCT TCTTCATAAG CTCCCACACG AAT.TGCTTG ATTCACTGGT
      pcdfg  CTTCTC.GC. ACAAGTTGAG CGCTCACGCT TATCGGCTGT AAATTAAAGA
35     xmdfa  GACAGCATCG TCCTGTCTGGG CGTCTTCACA AAGTACCTGC ATTCAAGAA

      201                                          250
      padfc  T..AGACGAT TGGGTCTGTA GCTCAGTTGG TTAGAGCGCA CCCCTGATAA
      pcdfg  C..AGACTCA GGGGTCTGTA GCTCAGTCGG TTAGAGCACC GTCTTGATAA
40     xmdfa  TCACAACGGC CAGGCCGATG TGAGAGTCCC TTTTGGGCCT TAGCTCAGCT

      251                                          300
      padfc  GG.TGAGGTC GGCAGTTCGA ATCTGCCCAG ACCCACCAAT ...TGTTGGT
      pcdfg  GGCGGGGGTC GTTGTTTCGA ATCCAACCAG ACCCACCATT GTCTGGCGGT
45     xmdfa  GGGAGAGCAC CTGCTTTGCA AGCAGGGGTC GTCGGTTCGA TCCCGACAG.

      301                                          350
      padfc  GTGCTGCGTG ATCCGA.... .TAC...GGG CCATAGCTCA GCTGGGAGAG
      pcdfg  AACACACCTG AGGCAAATCT GTACATGGGG GCATAGCTCA GCTGGGAGAG
50     xmdfa  CTCCACCATG TTCGAGCTGT ATACCGAAGT CCCTTTTCGAA G.AGCCCCGA

      351                                          400
      padfc  CGCCTGCTTT GCACGCAGGA GGTCAGGAGT TCGATCCTCC TTGGCTCCAC
      pcdfg  CACCTGCTTT GCAAGCAGG. GGTCGTCGGT TCGATCCCGT CTGCCTCCAC
55     xmdfa  CATCCATGTG CTACTTTTTG AAAAAGCCTT TCGGGTCTG. .TAGCTCAGG

```

10074246-024402

35